

SÉRIE A, N° 3118

N° D'ORDRE :
3990

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Robert ORTAVANT

1^{re} THÈSE

LE CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE CHEZ LE BÉLIER

2^e THÈSE

Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 07 DEC 1958 devant la Commission d'Examen :

M. GRASSÉ	Président.
M. JOST	} Examinateurs.
M. DEVEILLERS	

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
7, Rue Keppler - Paris

1958



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545928_0010

SÉRIE A, N° 3118

N° D'ORDRE :

3990

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Robert ORTAVANT

1^{re} THÈSE

LE CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE CHEZ LE BÉLIER

2^e THÈSE

Propositions données par la Faculté.

Soutenuës le **7 DEC 1958** devant la Commission d'Examen :

M. GRASSÉ

Président.

M. JOST

M. DEVEILLERS

} Examinateurs.

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
7, Rue Keppler - Paris



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen..... J. PÉRÈS

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	TRILLAT	T	Microscopie et diffr. électron.
FOCH	T	Mécanique physique et expérimentale.	WIEMANN	T	Chimie organique et struct.
PAUTHENIER	T	Électrotechnique générale.	JACQUINOT	T	Spectroscopie et Physique céleste.
De BROGLIE	T	Théories physiques.	VASSY	T	Physique de l'atmosphère.
PRENANT	T	Anatomie et histologie comparées.	DESTOUCHES	T	Théories physiques.
GARNIER	T	Géométrie supérieure.	M. PRUVOST	T	Géologie.
PÉRÈS	T	Mécanique des fluides et applications.	AMIEL	T	Chimie (P. C. B.).
LAUGIER	T	Physiologie générale.	HOCART	T	Minéralogie.
M. CURIE	T	Physique (P. C. B.).	J.-P. MATHIEU	T	Physique (P. C. B.).
BARRABÉ	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.	COUTEAUX	T	Biologie animale (P. C. B.).
G. DARMOIS	T	Calcul des probabilités et Physique mathématique.	MAY	T	Biologie animale (P. C. B.).
J. BOURCART	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	CHOQUET	T	Calcul différentiel et intégral.
PLANTEFOL	T	Botanique.	FELDMANN	T	Biologie (P. C. B.).
GRASSÉ	T	Évolution des êtres organisés.	GUINIER	T	Physique (P. C. B.).
PRÉVOST	T	Chimie organique.	JOST	T	Biologie (P. C. B.).
BOULIGAND	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	FORTET	T	Calcul des probabilités.
CHAUDRON	T	Chimie appliquée.	SCHWARTZ	T	Méthode mathématique de la physique.
TEISSIER	T	Minéralogie.	CHOUARD	T	Physiologie végétale.
MANGENOT	T	Zoologie.	MALAVARD	T	Aviation.
P. AUGER	T	Physique quantique et relativité.	BRELOT	T	Calcul différentiel.
MONNIER	T	Physiologie des fonctions.	NORMANT	T	Chimie (P. C. B.).
PIVETEAU	T	Géologie.	BÉNARD	T	Chimie (P. C. B.).
ROCARD	T	Physique (E. N. S.).	BUVAT	T	Botanique (E. N. S.).
H. CARTAN	T	Mathématiques (E. N. S.).	DUGUE	T	Statistiques mathématiques.
LAFFITTE	T	Chimie générale.	GELOSO	T	Chimie (P. C. B.).
FAVARD	T	Mécanique générale.	SOLLAIRAC	T	Psychophysiologie.
COULOMB	T	Physique du Globe.	ULRICH	T	Physiologie végétale.
Mlle COUSIN	T	Biologie animale (P. C. B.).	MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée.
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.	KIRRMANN	T	Théories chimiques.
P. DRACH	T	Zoologie.	CHADEFAUD	T	Botanique.
KASTLER	T	Physique.	DESTRIAU	T	Physique (M. P. C.).
EPHRUSSI	T	Génétique.	Mlle LE BRETON	T	Physiologie générale.
WURMSER	T	Biologie physico-chimique.	SALEM	T	Mathématiques générales.
RIVIÈRE	T	Géologie (S. P. C. N.).	LELONG	T	Mathématiques générales.
GAUTHERET	T	Biologie végétale (P. C. B.).	DEVILLERS	T	Anatomie et histologie comparées.
LUCAS	T	Recherches physiques.	EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire.	FRANÇON	T	Physique (M. P. C.).
ARNULF	T	Optique appliquée.	GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.
M. MORAND	T	Enseign. de physique.	GODEMENT	T	Mathématiques (M. P. C.).
SOLEILLET	T	Physique.	PISOT	T	Calcul des probabilités.
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides.	E. ROCH	T	Géologie.
DANJON	T	Astronomie.	SCHATZMANN	T	Astrophysique.
LAPORTE	T	Physique générale et radio-activité.	TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique.
JANET	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.	ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
PETIT	T	Biologie maritime.	JOLIOT	T	Physique nucléaire et Radio-activité.
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.	LENNUIER	T	Physique (P. C. B.).
GALLIEN	T	Embryologie.	RIZET	T	Génétique.
EICHORN	T	Biologie végétale (P. C. B.).	Mme TONNELAT	T	Théories physiques.
De CUGNAC	T	Biologie végétale (P. C. B.).	DIXMIER	T	Mathématiques (M. P. C.).
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie-Physique.	SOUCHAY	T	Chimie (P. C. B.).
THELLIER	T	Physique du Globe.	AIGRAIN	T	Physique (P. C. B.).
L'HÉRITIER	T	Génétique.	BRUSSET	T	Chimie (P. C. B.).
GRIVET	T	Radioélectricité.	M. LEVY	T	Physique théorique.
PONCIN	T	Mécanique des fluides.	LENORMANT	T	Physiologie.
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.	Mme CHAIX	T	Chimie biologique.
QUELET	T	Chimie organique.	Mme HUREL-PY	T	Biologie Végétale (P. C. B.).
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.	PLAUX	T	Chimie (P. C. B.).
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire.	BRUN	T	Méc. exper. des fluides.
CUVILLIER	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.	LEDERER	T	Chimie biologique.
JUNG	T	Pétrographie.	Mme DUBREIL	T	Mathématiques.
			Mme LELONG	T	Mathématiques (E. N. S.).
			BELLAIR	T	Géologie (S. P. C. N.).
			COTTE	T	Physique (M. P. C.).
			J.-E. DUBOIS	T	Chimie.
			LAMOTTE	T	Zoologie.
			MICHEL	T	Chimie (P. C. B.).
			OLMER	T	Énergétique générale.
			ROUAULT	T	Physique (S. P. C. N.).
			GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.

Secrétaire Général..... CH. MONIER

**LE CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE
CHEZ LE BÉLIER**

Ce travail fut commencé à la Bergerie Nationale de Rambouillet, dont je tiens à remercier le Directeur d'alors, M. LAPLAUD. Il fut interrompu pendant mon séjour à l'École Nationale d'Agriculture de Rennes, et mené à bien à la Station de Physiologie animale du Centre National de Recherches Zootechniques, à Jouy-en-Josas, sous l'autorité de M. THIBAUT, Directeur de cette station, auquel je tiens à exprimer ma gratitude, non seulement pour ses conseils, mais aussi pour la collaboration apportée à une partie de ce travail.

Ce travail expérimental a nécessité un grand nombre d'animaux et des moyens matériels importants, sans lesquels il eût été impossible d'aboutir à des conclusions certaines. C'est pourquoi, je tiens à remercier tout particulièrement la Direction de l'Institut National de la Recherche Agronomique qui, comprenant le caractère souvent illusoire des résultats obtenus en vue d'une amélioration de la fertilité de nos animaux domestiques sans recherches physiologiques fondamentales, n'a pas hésité à accorder son soutien à ce travail et à donner les moyens matériels pour le réaliser.

Je remercie également mes camarades de la Station de Physiologie animale dont l'enthousiasme scientifique m'a été précieux et je peux assurer le Dr CLERMONT de Montréal que j'ai retiré un grand profit de nos conversations amicales. Enfin je tiens à exprimer ma reconnaissance à M. C. ESNAULT et M^{lle} T. AKSENOFF qui, par leur collaboration technique intelligente et dévouée ont contribué à la réalisation de ce travail.

LE CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE CHEZ LE BÉLIER

PAR

R. ORTAVANT

Station de Recherches de Physiologie animale
Centre National de Recherches Zootechniques Jouy en Josas (S. et O.)

INTRODUCTION

L'insémination artificielle des animaux domestiques, technique d'acquisition récente, a progressé à une allure telle que, 20 ans après son apparition dans l'élevage, des millions de veaux ou agneaux lui sont annuellement redevables de leur naissance. Si son développement a attiré l'attention sur l'importance de la valeur génétique du mâle par suite de la multiplication de ses descendants, il a surtout accusé l'effet des moindres déficiences dans la qualité du sperme utilisé sur la fécondité du cheptel. C'est pourquoi, l'utilisation de l'Insémination Artificielle a provoqué un grand nombre de travaux de recherches afin d'obtenir le meilleur rendement possible de cette technique.

Il est curieux cependant de constater que la majorité de ces travaux porte sur le sperme récolté : son métabolisme, sa dilution, sa conservation, alors que les processus fondamentaux qui président à la formation des spermatozoïdes (spermatogenèse) sont très peu connus chez les Mammifères domestiques.

En effet, si une analyse précise du déroulement des phénomènes spermatogénétiques chez les animaux de laboratoire résulte des travaux fondamentaux d'un certain nombre de chercheurs, dont von EBNER, SERTOLI, REGAUD, ROOSEN RUNGE, CLERMONT sont les plus représentatifs, nos connaissances sur la spermatogenèse des animaux domestiques restent très imprécises malgré le travail de SCHOENFELD. C'est pourquoi il nous a paru indispensable d'en reprendre l'étude d'une façon aussi complète que possible.

Nous avons d'abord cherché à acquérir une *connaissance précise du déroulement du cycle spermatogénétique*. A cette fin, nous avons surtout fait appel à l'histologie que nous avons utilisée dans un but non seulement descriptif, mais aussi quantitatif chaque fois que cela était possible.

La spermatogenèse étant un phénomène essentiellement dynamique nous nous sommes attachés à déterminer d'une part, la production de spermatozoïdes par unité de temps, d'autre part la *durée du déroulement des différents processus spermatogénétiques*, cette dernière notion étant la base de toute étude sur l'influence des divers facteurs pouvant modifier l'activité spermatogénétique. Il est en effet indispensable de connaître le temps qui s'écoule entre le moment où un facteur déterminé agit sur certaines cellules germinales et le moment où les spermatozoïdes issus de ces cellules seront collectés pour être utilisés. C'est ainsi que la méconnaissance de cette donnée a entraîné certaines contradictions dans l'étude de l'influence de l'alimentation sur la production du sperme. Pour ce faire nous avons fait appel à des techniques extrêmement variées : parmi celles-ci l'utilisation d'éléments marqués nous a été d'un précieux secours.

Enfin nous avons cherché comment se comportaient les données que nous avions définies sur l'animal normal, lorsque la spermatogenèse était profondément modifiée par l'un des principaux facteurs contrôlant son activité : *la durée d'éclairement*.

Les résultats que nous avons obtenus sur le Bélier nous paraissent justifier la publication de ce mémoire. Cependant il ne faudrait pas généraliser nos résultats aux différents animaux domestiques : nous montrerons, en particulier dans un mémoire ultérieur, les variations constatées dans la spermatogenèse du Taureau.

TECHNIQUES ET MÉTHODES

A. — LES ANIMAUX ET LES CONDITIONS D'ÉLEVAGE

Les animaux sur lesquels ont porté nos recherches étaient tous des Béliers de race Ile-de-France car les 1 500 000 animaux de cette race sont concentrés dans une aire géographique assez restreinte autour de Paris, ce qui permet un approvisionnement facile. Chez les Ovins, la saison normale de reproduction se situe à l'automne. Cependant dans certains troupeaux de race Ile-de-France la période de « lutte » commence dès la fin du printemps. Malgré cette pratique, nous désignerons comme saison sexuelle l'époque s'écoulant de septembre à décembre inclus et comme saison non sexuelle, la période allant de mars à juin.

Les 178 animaux que nous avons utilisés étaient âgés d'au moins 18 mois : ils étaient donc tous sexuellement actifs puisque PHILLIPS et ANDREWS (1936) ont montré, sur des Béliers Southdown et Shropshire, que les spermatozoïdes apparaissaient dans le testicule dès le 147^e jour. Comme d'autre part ces auteurs ont constaté l'importance d'une forte

alimentation dans le développement testiculaire, nous n'avons utilisé que des animaux normalement développés et en bon état.

Les rations distribuées par bélier étaient les suivantes :

Période hivernale (novembre-avril)

Foin	1,500 kg
Betteraves + Balle de Blé	2 kg
Paille	à volonté
Concentré (Tourteau de lin + Céréales)	350 à 400 g

Période estivale (mai-novembre)

Herbe verte (luzerne, trèfle, prairie, ray-grass, dactyle)	7 à 8 kg
Paille	à volonté
Concentré	300 g

Pendant les expériences d'éclairement l'alimentation était identique quelle que soit la saison, à savoir :

Foin	1,500 kg
Pulpe sèche	1,500 kg
Concentré	300 g
Paille	à volonté

Tous les béliers utilisés en dehors des expériences sur l'influence de la durée d'éclairement étaient gardés pendant toute l'année sous un hangar ouvert sur 3 côtés. Ils étaient donc soumis aux variations climatiques naturelles. Pour les études sur l'influence de la durée d'éclairement, ils restaient par groupes de 3 ou 4 dans des cases de 10,5 m², dont les murs étaient blanchis à la chaux. L'éclairage était fourni par 2 tubes lumière du jour de 40 watts dont le déclenchement ou l'interruption étaient réglés par des horloges électriques. L'intensité lumineuse au niveau des yeux des béliers était de 145 lux vers le plafond et de 29 lux vers les murs des cases. Les animaux sortaient tous les jours de 9 heures à 16 heures 30 minutes dans des parcs à l'intérieur de la bergerie, eux-mêmes ouverts sur des parcs extérieurs. Ils recevaient leur alimentation pendant leur séjour dans ceux-là.

B. — PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS A ANALYSER

1° L'appareil génital.

Dans la majorité des cas, les animaux étaient abattus par égorgeement et saignée totale dans un abattoir situé à l'intérieur même du laboratoire. Les organes génitaux étaient prélevés de 2 à 5 minutes après la mort de l'animal et les différentes opérations à effectuer pouvaient être accomplies immédiatement.

Cependant, dans quelques cas, notamment lorsque les animaux étaient injectés avec du ³²P, il était nécessaire de procéder par castration. En effet, la carcasse de ces béliers étant radioactive ne pouvait être livrée

au commerce. On aurait pu attendre que la radioactivité soit éliminée en conservant les carcasses congelées pendant 3 mois (PIGOURY et NIZZA, 1954), mais nous avons préféré garder les animaux pendant 1 an avant de les abattre : les carcasses ne contenaient alors plus de radioactivité détectable. La castration était accomplie sous anesthésie générale par le protoxyde d'azote et le cyclopropane, ou sous anesthésie locale par l'aminocaïne. De grandes précautions d'aseptie devaient être prises avec les animaux ayant reçu du ^{32}P , sinon des infections post-opératoires se développaient facilement.

2° Les spermatozoïdes.

a) Techniques de récolte du sperme. — Normalement, le sperme des animaux domestiques est recueilli soit par prélèvement dans le vagin de la femelle, soit à l'aide d'un vagin artificiel, soit enfin par stimulations électriques.

α) Récolte à l'aide d'un vagin artificiel : La première méthode est peu utilisée car elle présente de nombreuses imperfections : récupération incomplète de l'éjaculat, pollution du sperme par des bactéries ou des sécrétions vaginales même lorsque des lavages du vagin ont été effectués auparavant (MAC KENZIE et BERLINER, 1937).

La récolte à l'aide d'un vagin artificiel est le procédé le plus utilisé. On peut en trouver une description détaillée dans ANDERSON (1945), TERRILL (1947), BONADONNA (1948).

Sur les béliers nous avons utilisé un vagin artificiel identique à celui décrit par TERRILL (1947). Le lubrifiant utilisé était une pâte soluble à l'eau froide (DAUZIER et autres 1952), qui présente l'avantage sur la vaseline, généralement utilisée, de permettre un nettoyage du matériel beaucoup plus facile. La température du vagin artificiel variait selon les animaux de 42°C à 46°C (RODIN, 1934 et 1940). Lors des premiers essais, la brebis boute-en-train était toujours en chaleur, mais par la suite les récoltes étaient effectuées aussi facilement à l'aide d'une brebis non en rut. Le vagin artificiel était aseptisé avec de l'alcool 95° et l'éjaculat recueilli dans un tube stérile gradué au 1/10 de ml.

β) Récolte du sperme à l'aide de stimulations électriques : La récolte à l'aide d'un vagin artificiel offre un inconvénient important : elle dépend de la bonne volonté du bélier. Si, pour une raison quelconque : création de réflexes d'inhibition (SOKOLOVA, 1940), le bélier refuse de se prêter à la collecte, toute étude quantitative sur la production de sperme devient impossible. Il est donc nécessaire de disposer d'une technique indépendante de la volonté de l'animal : la stimulation électrique de l'éjaculation répond à cette condition.

Historique : BATELLI (1922) fut le premier, du moins à notre connais-

sance, à utiliser les stimulations électriques pour obtenir du sperme. Il plaçait une électrode au contact de la nuque et une autre dans la bouche d'un Cobaye, puis appliquait 2 fois un courant alternatif de 47 périodes sous 30 volts pendant environ 2 secondes avec un intervalle d'une ou deux minutes. Il obtenait ainsi l'éjaculation. De plus, la répétition de ce traitement tous les 3 ou 4 jours n'entraînait pas de diminution de poids des animaux.

Puis, MOORE et GALLAGHER (1929, 1930) modifièrent la technique pour étudier le fonctionnement des glandes accessoires du Cobaye. Mais c'est à GUNN (1936) que revient le mérite d'avoir utilisé les stimulations électriques comme moyen de collecte courant chez le Bélier. GUNN plaçait une électrode dans le rectum de l'animal après avoir effectué un lavement à l'aide d'une solution de ClNa , puis piquait une aiguille dans le muscle longissimus dorsi au niveau de la 4^e vertèbre lombaire. Il employait du courant alternatif de 50 périodes sous 30 volts et 180 à 200 milliampères, et appliquait 10 à 20 (parfois jusqu'à 37) stimuli pendant 5 à 10 secondes avec des intervalles de repos identiques. D'une façon presque constante l'animal éjaculait du sperme normal sous tous les rapports. Toutes les techniques utilisées par la suite sont plus ou moins dérivées de celle de GUNN. BONADONNA (1938), BRADY et GILDOW (1939), TERRILL (1940) modifièrent légèrement soit la forme de l'électrode lombaire (tampon, rouleau), soit la fréquence des stimulations sur des Béliers et des Boucs.

Elle fut adaptée aux animaux de laboratoire (Souris, Rat, Cobaye) par de nombreux auteurs : TINET (1939), DUFFEE et autres (1940), BORDET (1941), JOEL (1941), COLLERY (1944), avec des résultats variables et chez les animaux à fourrure par DUFFEE (1939), puis par BENHAM et ENDERS (1941).

Une nouvelle étape dans la technique de l'électroéjaculation fut marquée par la mise au point d'une électrode rectale bipolaire pour Bélier (LAPLAUD et CASSOU, 1945) possédant l'avantage de provoquer des réactions beaucoup moins violentes chez l'animal. Des applications et des modifications de cette électrode furent effectuées par ORTAVANT, THIBAULT et LAPLAUD (1948), LAURANS et CLÉMENT (1950), MATA et CANO (1952), LIKAR et KAMBI (1953).

L'électrode bipolaire de LAPLAUD, fut utilisée pour la première fois chez le Taureau par THIBAULT, LAPLAUD et ORTAVANT (1948). Ces auteurs, tenant compte des essais de KUN et PECZENICK (1937) sur le Rat commencent l'opération par une phase préparatoire où les excitations sont faibles, puis terminent par une phase d'attaque où l'intensité des excitations est beaucoup plus forte (ORTAVANT et THIBAULT, 1952). Au cours de la phase préparatoire on obtient surtout des sécrétions accessoires provenant des glandes urétrales (LUTWAK-MANN et ROWSON, 1953) ;

le sperme riche en spermatozoïdes est éjaculé lors de la phase d'attaque. Cette technique fut préconisée comme méthode courante de collecte de sperme chez les Taureaux par LAPLAUD, ORTAVANT et THIBAUT (1948), et utilisée avec ou sans modifications par MASCARENHAS et GOMES (1950), EGRON (1952), MARDEN (1953), DZIUK, GRAHAM et PETERSEN (1954), LEBRETON (1954), RICHEME (1955). Elle a été simplifiée récemment par ROWSON et MURDOCH (1955).

Chez le Verrat, l'électroéjaculation fut effectuée par LAPLAUD et CASSOU (1948) et surtout par DZIUK et autres (1954).

— *Mécanismes et conditions d'action des stimulations électriques* : Le mécanisme d'action des stimulations électriques reste obscur. On admet en général l'existence de 3 étages de centres réglant la fonction sexuelle (DENAMUR et SIMONNET, 1950) : un étage bulbo-médullaire, un étage diencephalique et un étage cortical.

L'étage principal, bulbo-médullaire, renferme le centre de l'érection situé dans la moelle lombaire de L₁ à S₃, et le centre de l'éjaculation superposé anatomiquement au précédent de L₂ à L₃, mais indépendant fonctionnellement. L'éjaculation peut en effet avoir lieu après section de la moelle épinière au-dessus de la région lombaire.

L'étage diencephalique permet l'élaboration de l'instinct sexuel, et l'étage cortical, siège des réflexes conditionnels, peut devenir un centre d'inhibition. Bien que certains auteurs aient obtenu l'éjaculation en inhibant les centres supérieurs par anesthésie à l'éther (SUZUKI, 1952), l'anesthésie ne semble pas avoir amélioré le rendement de l'électroéjaculation (GUNN, 1936 ; KOBOZIEFF et LARVOIR, 1953 ; DZIUK et autres, 1954). Comme, d'autre part, FERRIS et autres (1936) ont montré que le lieu de passage le plus dangereux du courant électrique dans le corps est la région du cœur, il est nécessaire que les excitations électriques ne stimulent que les centres lombaires.

Toutes ces raisons expliquent pourquoi les électrodes recto-lombaires de GUNN étaient une amélioration sur les électrodes céphaliques, l'électrode rectale bipolaire de LAPLAUD et CASSOU (1945) une amélioration par rapport aux électrodes recto-lombaires de GUNN. La réduction minimum de la zone d'excitation a été réalisée récemment par ROWSON et MURDOCH (1955) chez le Taureau puisque leur électrode se réduit à deux anneaux.

Les caractéristiques du courant utilisé ont été discutées surtout par DALZIEL et PHILLIPS (1948) pour le Rat et le Lapin. Ces auteurs ont obtenu leurs meilleures réponses avec des courants de 500 à 1 000 périodes, bien qu'avec un courant de 60 périodes les résultats soient constants ; ils ont préconisé des stimulations brèves et une intensité de 8 à 16 mA. Chez le Taureau, MARDEN (1953) a trouvé une légère supériorité des courants de 20 à 30 périodes, par contre DZIUK et autres (1954) ne constatèrent

pas de différence pour des courants de 15 à 900 périodes. C'est pourquoi, pour des raisons pratiques et économiques, nous préférons utiliser les courants de secteur à 50 périodes.

— *Technique utilisée*. Pour nos expériences, nous avons eu recours à l'électrode rectale bipolaire de LAPLAUD et CASSOU (1945) : cylindre long de 30 cm et de 3 cm de diamètre, possédant 13 anneaux en laiton isolés par des anneaux en ébonite et reliés alternativement aux deux bornes d'un potentiomètre pouvant débiter sous 2 à 24 volts, un courant alternatif de 50 périodes, ayant une intensité maximum de 1,0 ampère.

L'animal est solidement saigné et contenu dans un travail, mais les membres sont laissés libres. Après avoir pratiqué un lavement à l'aide d'une solution de ClNa à 10 p. 1 000 et vidé le rectum des excréments, l'électrode lubrifiée est introduite dans celui-ci. Toutes les excitations sont obtenues en faisant varier progressivement l'intensité du courant de zéro, ou d'une faible valeur, à une valeur de pointe qui va en augmentant avec le déroulement de l'opération et vice-versa. La durée totale de chaque excitation varie de 3 à 5 secondes et l'intervalle entre chaque stimulation est de deux à trois secondes.

Au cours de la première partie ou phase préparatoire, l'augmentation de l'intensité du courant est très faible. Cette phase doit être assez courte, au maximum 5 à 6 excitations. Contrairement à ce qui se passe chez le Taureau, il n'est en effet pas recommandé de prolonger cette phase, sinon l'éjaculation est plus difficile à obtenir, bien que l'érection soit favorisée. DZIUK et autres (1954) signalent également ce phénomène chez le Bouc et le Bélier pour des courants de 1 à 2 volts.

Puis on augmente progressivement l'intensité des stimulations en faisant bien attention à ce que au cours de chaque stimulation la phase de décroissance soit beaucoup plus rapide que la phase d'accroissement. Après quelques excitations (2 à 6) on obtient en général un éjaculat normal. Si, après 5 ou 6 excitations l'animal n'a pas éjaculé, il est inutile de continuer : très souvent l'éjaculation se produit 30 secondes plus tard. S'il n'en est pas ainsi, une ou deux fortes stimulations après un repos de 2 à 3 minutes, donneront à coup sûr le sperme. Les échecs dans l'emploi de cette méthode ont été extrêmement rares.

Le maintien de l'électrode et les stimulations peuvent être effectuées par le même opérateur, tandis que le sperme est récolté par un deuxième opérateur dans un cône en caoutchouc à l'extrémité duquel est attaché un tube de récolte gradué au 1/10^e de ml. Il est indispensable de prendre un certain nombre de précautions relatives à la température du cône et du tube de récolte. On sait en effet que le sperme est très sensible aux chocs de température (BIRILLO et PUHALSKII, 1936 ; GLADCINOVA, 1937). C'est pourquoi si on n'opère pas dans un local où la température peut être réglée, il est nécessaire d'enrober le tube et le cône de collecte dans un

manchon en coton préalablement mis dans une étuve à 37°. Ainsi, même si l'opération demande quelques minutes, les récipients de collecte conservent une température suffisante pour éviter toute action nocive sur la vitalité du sperme. A l'aide de cette technique, on peut obtenir plusieurs éjaculats successifs : nous en avons obtenu jusqu'à 4 en moins de 30 minutes, soit 9 ml de sperme. On peut ainsi très facilement récolter des quantités importantes de spermatozoïdes et provoquer une diminution des réserves spermatiques de la queue de l'épididyme indépendamment de la volonté de l'animal.

Nous n'avons jamais observé d'accident bien qu'ayant effectué plus de 600 récoltes. Certains béliers étaient soumis pendant près de deux mois à des collectes quotidiennes (sauf le dimanche) sans qu'il en résulte un effet nocif sur leur santé. Ces faits confirment les observations de GUNN (1936), et de HILL et autres (1956).

γ) *Comparaison des différentes méthodes de collecte* : BRADY et GILDOW (1939), TERRILL (1940) ont comparé les 3 méthodes de collecte. Ils ont constaté que la récolte au vagin artificiel fournissait la plus grande concentration et le plus grand nombre de spermatozoïdes, l'électroéjaculation donnant le plus grand volume. ORTAVANT, LAPLAUD et THIBAUT (1948) ont effectivement constaté en opérant par électroéjaculation sur des béliers Mérinos, une plus faible concentration en spermatozoïdes et recueilli un nombre total de spermatozoïdes légèrement inférieur à celui récolté au vagin artificiel. Cependant, au cours des expériences rapportées dans ce travail, nous n'avons pas observé de différence dans le nombre total de spermatozoïdes récoltés par stimulations électriques ou à l'aide d'un vagin artificiel sur des béliers Ile-de-France (tableau I).

TABLEAU I

Comparaison de différentes techniques de récolte de sperme.

Béliers	Nombre total de spz (10^9) récoltés		Auteur
	Vagin artificiel	Stimulation électr.	
Mérinos.....	3,2 ± 0,3	2,3 ± 0,5	ORTAVANT, LAPLAUD et THIBAUT (1948) ORTAVANT (non publié)
Ile-de-France.....	4,75 ± 0,40	4,90 ± 0,60	

Si l'on provoque plusieurs fois l'éjaculation, comme nous l'avons indiqué précédemment, la quantité totale de spermatozoïdes recueillis peut être très importante.

Enfin, TERRILL (1940) sur le Bélier, RICHEMME, ORTAVANT et THIBAUT (non publié), DZIUK et autres (1954) sur le Taureau, ne trouvent pas de différence dans le pouvoir fécondant du sperme récolté au vagin artificiel ou par des stimulations électriques.

Par conséquent le sperme récolté grâce à la technique électrique est normal sous tous les rapports.

b) Séparation des spermatozoïdes à partir du canal épидидymaire. —

Les spermatozoïdes entassés dans le canal épидидymaire progressent, entraînés dans le fluide épидидymaire par les mouvements ciliaires de l'épithélium (Mac MILLAN et HARRISSON, 1955), et peut-être aussi poussés par l'arrivée de nouveaux spermatozoïdes. Dans une section de 10 μ d'épaisseur du canal épидидymaire, il n'est pas rare de voir une grande quantité de spermatozoïdes dépassant parfois la centaine. On conçoit facilement que, si on ouvre le canal épидидymaire à un endroit, les spermatozoïdes se répandent dans le milieu ambiant. C'est sur ce principe que sont basées la plupart des techniques d'extraction des spermatozoïdes de l'épididyme. Nous avons utilisé celle de DALLAM et THOMAS (1953) légèrement modifiée.

L'épididyme est divisé en général en 6 fractions : la tête, le corps et la queue étant séparés en une partie proximale et une partie distale. Chacune de ces fractions est découpée à l'aide de ciseaux dans du sérum physiologique en un grand nombre de fragments aussi petits que possible. On laisse l'ensemble macérer à froid (0°, + 2°C) pendant environ 30 minutes, puis on filtre sur 6 couches de gaze. Le filtrat est centrifugé pendant 10 minutes à 4 800 t/mn ; le culot est homogénéisé très brièvement (environ 10 secondes) à très faible vitesse (500 à 800 t/mn) dans un appareil de POTTER-ELVEJEHM, cette opération étant uniquement destinée à remettre en suspension dans du sérum physiologique froid les spermatozoïdes récoltés. Une deuxième centrifugation pendant 5 minutes à 3 000 t/mn permet de récupérer un nouveau culot de spermatozoïdes. Ce culot est congelé ⁽¹⁾, puis homogénéisé dans les mêmes conditions que précédemment. Une nouvelle centrifugation (5 minutes à 3 000 t/mn) permet d'éliminer une grande partie des hématies. Deux nouvelles homogénéisations dans de l'eau distillée suivies de centrifugations (10 minutes à 2 000 t/mn) permettent d'obtenir une préparation de spermatozoïdes pratiquement pure.

3° Libération et détermination de la quantité totale de spermatides à noyaux allongés et de spermatozoïdes testiculaires.

Comme nous le verrons dans les chapitres ultérieurs, les spermatides présentent, pendant certaines phases du cycle de l'épithélium séminifère, un noyau allongé très semblable à celui des spermatozoïdes mûrs. Elles sont alors aisément reconnaissables et constituent un excellent point de repère au cours du cycle spermatogénétique. Cependant les noyaux de ces spermatides sont réunis en faisceaux et enrobés dans le cytoplasme

⁽¹⁾ Nous avons toujours obtenu une meilleure élimination des hématies après congélation.

du syncytium de Sertoli où ils subissent ou ont subi la copulation décrite pour la première fois par BENDA (1887). Pour les compter il est nécessaire d'une part de rompre cette liaison et d'autre part de séparer les noyaux les uns des autres sans les détériorer.

a) **Historique** : C'est l'observation de CROSSMON (1937), selon laquelle les noyaux sont éjectés des cellules musculaires après traitement du tissu par l'acide citrique, qui conduisit STONEBURG (1939), puis DOUNCE (1943 a, b, c) à la mise au point d'une technique précise d'isolement des noyaux. Ce dernier auteur opère par broyage des tissus dans un Waring Blendor pendant 10 à 15 minutes, en présence d'une solution d'acide citrique $\frac{M}{475}$ ou $\frac{M}{14}$ selon qu'il opère sur du foie ou des tumeurs. Cependant la technique de Dounce a été critiquée par HOERR (1943) qui prétend que l'utilisation du Waring Blendor est trop brutale et qu'il est préférable d'utiliser une solution à 0,85 p. 100 de ClNa à la place de l'eau distillée.

Quelle que soit la technique utilisée, il faut remarquer que les noyaux des spermatides à chromatine condensée et ceux des spermatozoïdes sont beaucoup plus résistants que les autres noyaux aux différents traitements. C'est ainsi que ZITTLE et O'DELL (1941) sont obligés d'utiliser un vibreur ultrasonique pour séparer la tête des spermatozoïdes de leur queue. De même MANN (1949) utilisant un agitateur mécanique rapide avec de fines billes de verre, trouve une rupture et une disparition de la queue et de la pièce intermédiaire ; par contre, il ne constate aucun effet visible sur la tête des spermatozoïdes. En comptant les têtes à la fin de l'expérience, MANN trouve que leur nombre correspond exactement à celui des spermatozoïdes originellement présents dans la suspension spermatique. Leur résistance est également importante vis-à-vis des solutions hypotoniques et hypertoniques (BLACKSHAW et EMMENS, 1951 ; BROCHART, 1951), bien que certains auteurs signalent une légère différence des dimensions des têtes dans les solutions non isotoniques (PURSLEY et HERMAN, 1950). Cependant aucun de ces auteurs ne signale une destruction de tels noyaux par éclatement ou rétrécissement. On peut donc employer pour leur séparation des techniques plus brutales que celles utilisables avec d'autres catégories de cellules.

b) **Technique utilisée** : Nous avons essayé d'adapter la technique de DOUNCE au testicule en tenant compte des critiques qui ont été formulées et des observations déjà faites sur la résistance des noyaux spermatiques.

Nous avons utilisé un broyeur Turmix à lames tranchantes, tournant à 12 000 t/mn. Puisqu'on a critiqué l'action brutale du Waring Blendor nous avons essayé de réduire la durée de broyage au minimum. Le testicule est débarrassé de l'albuginée, puis coupé en morceaux de la grosseur d'une noix, et enfin broyé dans le Turmix en présence d'environ

300 cc d'une solution à 0,9 p. 100 de ClNa ou à $\frac{M}{15}$ d'acide citrique. La bouillie est mise à macérer à $+ 10^{\circ}\text{C}$ après rinçage du Turmix avec une solution identique à celle du broyage de façon que le volume total de liquide soit égal à environ 600 cc pour un testicule de 200 g. Les deux solutions, sérum physiologique ou acide citrique $\frac{M}{15}$, nous ont donné également de bons résultats : les numérations effectuées après broyage et macération ne nous ont pas révélé de différences significatives. Il est à noter cependant qu'avec l'acide citrique, l'examen microscopique est un peu moins facile.

Influence du temps de broyage et de macération : Nous avons utilisé des temps de broyage bien inférieurs à ceux préconisés par DOUNCE puisque cet auteur conseille des temps allant de 10 à 15 minutes. Les testicules de différents béliers étaient partagés en 2 parties aussi semblables que possible et de poids connu. Une moitié était soumise à un broyage de une minute, et l'autre moitié à un broyage de 2 minutes. On constate que dans le deuxième cas on retrouve moins de noyaux que dans le premier, comme on peut le constater d'après le tableau ci-dessous.

TABLEAU II

Influence du temps de broyage sur le nombre de spermatozoïdes (10^8) libérés par gramme de tissu testiculaire (après macération de 48 h.)

Temps de Broyage	1 minute	2 minutes
Nombre de noyaux	1,006 $\pm$ 0,020	0,816 $\pm$ 0,018
Nombre de données	11	11

Ainsi, un broyage de 2 minutes détruit un certain nombre de noyaux.

On ne peut cependant descendre en dessous de 1 minute. En effet pour des quantités de tissu testiculaire de l'ordre de 100 grammes des temps de broyage inférieurs à 1 minute donnent une bouillie imparfaite. D'ailleurs, même après 1 minute de broyage, la libération des spermatozoïdes n'est complète qu'après 48 heures de macération, bien que la bouillie présente une apparence homogène. Après 24 heures de macération les résultats des numérations sont significativement inférieurs à ceux obtenus les jours suivants, ainsi que le montre l'examen du tableau suivant.

Dans ce tableau les résultats des numérations sont tous rapportés à ceux obtenus après 48 heures de macération.

Ainsi, il apparaît que le temps de broyage optimum est de 1 minute, à 12 000 tours, et que les numérations doivent être effectuées sur des broyats ayant subi de 48 heures à 96 heures de macération en chambre froide.

TABLEAU III

Influence de la durée de macération après 1 minute de broyage sur les résultats des numérations des spermatides et des spermatozoïdes.

Organe	Temps de macération				
	24 h	48 h	72 h	96 h	5-6-7 jours
Testicule	87,9 ± 3,8	100	101,9 ± 2,6	103,8 ± 4,4	99,2 ± 3,7
Nombre de données	17	103	45	27	14
Tête épидидyme	93,3 ± 7,2	100	101,9 ± 4,3	106,3 ± 4,7	88,6 ± 9,2
Nombre de données	14	71	35	25	7
Queue épидидyme	99,7 ± 6,9	100	105,8 ± 2,9	100,0 ± 3,6	111,3 ± 6,3
Nombre de données	10	92	36	30	16

c) **Numérations.** — Les numérations ont été faites à l'aide d'un hématimètre après dilution de 1 cc de bouillie dans 9 cc de sérum physiologique formolé. Les prélèvements ne sont effectués qu'après une bonne homogénéisation de la bouillie de façon à réduire les écarts entre les différentes numérations. Nous avons utilisé l'hématimètre Thoma, les noyaux étant comptés pour chaque numération dans 128 carrés. En effectuant 4 numérations à partir de la même bouillie, nous avons obtenu sur 22 testicules une déviation standard sur la moyenne variant de 1,1 à 9,3 p. 100 avec une moyenne de 4,7 p. 100. Nous retrouvons ainsi les résultats indiqués par la plupart des auteurs qui ont discuté l'utilisation de l'hématimètre pour les numérations des spermatozoïdes (COMSTOCK et autres, 1943 ; EMIK et SIDWELL, 1947 ; BANGS et UNDERWOOD, 1948 ; ROTSCCHILD, 1950 ; COX et MELROSE, 1953).

C. — TECHNIQUES HISTOLOGIQUES

1° Obtention et coloration des coupes histologiques.

Les prélèvements sur les testicules de Bélier étaient effectués à différents endroits sur un même testicule, également situés sur les différents testicules, et fixés immédiatement. A cet usage nous avons utilisé le Bouin-Hollande, pour les études générales sur le cycle spermatogénétique, puis, pour les différentes recherches sur la spermiogénèse, l'Orth-Muller, le Flemming doux, le Helly et le Regaud. Pour les frottis de l'acrosome, les fixateurs qui nous donnèrent les meilleurs résultats furent le Rossman, le formol et surtout les vapeurs d'acide osmique à 2 p. 100 pendant 20 minutes sur frottis humides. Après inclusion, les coupes étaient effectuées à 10 μ pour l'étude générale et à 5 μ ou 2,5 μ pour l'étude des spermatoctytes ou des spermatides.

Nous avons utilisé la coloration à l'hématoxyline ferrique de REGAUD pour l'étude du matériel de Golgi ou des mitochondries, et l'héma-

lum pour l'autoradiographie. Mais les deux colorations auxquelles nous avons fait le plus souvent appel sont la réaction nucléale de Feulgen et la réaction acide periodique-Schiff de MAC-MANUS (1946).

a) **Réaction de Feulgen.** — La réaction nucléale de Feulgen a été très utilisée en histologie, soit pour faire des études sur l'acide désoxyribonucléique des cellules, soit simplement comme coloration courante des noyaux cellulaires. La réaction de Feulgen dépend de la formation d'un composé coloré en pourpre quand des fonctions aldéhydiques ou pseudoaldéhydiques réagissent avec la fuschine décolorée par l'anhydride sulfureux.

Cette réaction a été autrefois souvent critiquée soit pour son manque de spécificité, soit pour son incapacité à localiser exactement l'acide désoxyribonucléique (ADN). Cependant la plupart des auteurs admettent aujourd'hui que dans certaines conditions la réaction de Feulgen est spécifique de l'ADN. Cette réaction est actuellement très employée et elle a même été transformée en un test microchimique pour la détermination quantitative de l'ADN dans les préparations histologiques (RIS et MIRSKY, 1949 ; SIBATANI et NAORA, 1953 ; SIBATANI et FUKUDA, 1953 ; SIBATANI, 1954 ; LEUCHTENBERGER, 1954 ; NAORA, 1955) à condition que certaines précautions soient respectées.

Le mécanisme de la réaction se déroule classiquement de la façon suivante : l'hydrolyse acide ménagée de l'ADN produit d'abord une dépolymérisation de celui-ci (ERRERA, 1952), puis libère les bases puriques : adénine et guanine, qui découvrent chacune le groupement pseudoaldéhydique actif du désoxyribose donnant ainsi naissance à une molécule d'acide thymique (ELY et ROSS, 1949 ; THOMAS, 1950).

α) *Influence du temps d'hydrolyse* : La libération des bases est rapide ; elle est pratiquement complète après 15 à 16 minutes d'hydrolyse avec ClH , N, à 60°C. Parallèlement a lieu un deuxième phénomène constitué par la solubilisation de l'acide thymique après 12 minutes d'hydrolyse ; cependant, cette solubilisation ne devient importante qu'après 20 minutes (THOMAS, 1950), elle tend alors à diminuer l'intensité de la coloration nucléale.

Nous avons essayé les hydrolyses avec ClH , 6 N à froid (ITIKAWA et OGURA, 1954) ou avec PO_4H_3 (HASHIM, 1953), mais les résultats nous sont apparus inférieurs à ceux de l'hydrolyse classique.

En fait, pour le testicule de Bélier, nous avons obtenu les plus belles colorations après 19 minutes d'hydrolyse dans ClH , N, à 60°C, après fixation au Bouin-Hollande. Le résultat de l'hydrolyse dépend en effet du fixateur.

β) *Influence des fixateurs* : Il est classique d'utiliser le Carnoy comme fixateur des tissus destinés à subir la réaction de Feulgen. Cependant ce fixateur n'a pas d'action protectrice vis-à-vis de la solubilisation de l'acide

thymique, ou de la nucléohistone, action que possèdent les fixateurs à base de formol (RIS et MIRSKY, [1949, [SIBATANI et FUKUDA, 1953). C'est ainsi que pour les tissus fixés au Carnoy l'intensité de coloration diminue après 15 minutes d'hydrolyse, tandis que pour les tissus fixés au formol il faut attendre plus de 25 minutes d'hydrolyse pour observer une diminution de l'intensité de coloration. De plus, avec le formol on obtient une répartition plus homogène de la coloration dans le noyau, ce qui peut présenter un grand avantage pour les mesures quantitatives (RIS et MIRSKY, 1949). Avec le testicule de Bélier, nous avons fait des constatations identiques.

γ) *Influence de la durée de coloration* : Celle-ci a été étudiée par ELY et ROSS (1949) et RIS et MIRSKY (1949). Pour le testicule de Bélier, nous avons obtenu les meilleurs résultats après 70 à 80 minutes de coloration à la température du laboratoire. Si on prolonge la durée d'action du réactif de Schiff on constate une diminution de l'intensité de coloration, mais celle-ci n'est appréciable qu'après plusieurs heures, sans doute due à une nouvelle hydrolyse acide par le réactif de Schiff.

δ) *Influences diverses* : Nous avons toujours constaté une très forte augmentation de l'intensité de coloration par lavage des coupes à l'eau du robinet pendant 15 à 30 minutes après les 3 rinçages à l'eau sulfureuse d'une minute chacun.

Après avoir subi la coloration de Feulgen les coupes étaient passées pendant quelques secondes dans une solution très diluée de vert lumière (environ 1 p. 1 000), et montées dans le baume, selon la technique classique.

b) **Coloration acide periodique-Schiff.** — Cette coloration (PAS) a été développée par MAC MANUS (1946) et HOTCHKISS (1948) ; elle a été préconisée par LEBLOND (1950), LEBLOND et CLERMONT (1952), CLERMONT (1953) pour l'étude de la spermiogenèse des Mammifères. Elle est basée sur l'oxydation des groupements 1-2 glycol ou α -amino alcool par l'acide periodique avec production d'aldéhyde.

Les aldéhydes produits recolorent le réactif de Schiff. Nous avons utilisé des solutions alcooliques (HOTCHKISS, 1948) et procédé comme suit :

- oxydation des coupes déparaffinées ou des frottis pendant 10 minutes dans la solution d'acide periodique ;
- lavage dans l'alcool 70° pendant 1 minute ;
- passage dans la solution réductrice pendant 5 minutes de façon à enlever l'excès d'acide periodique (facultatif) ;
- lavage dans l'alcool 70° pendant 1 minute ;
- coloration dans le réactif de Schiff pendant 45 minutes ;
- rinçage dans 3 bains d'eau sulfureuse (1 minute chacun) ;
- lavage à l'eau du robinet pendant 15 à 30 minutes.

Les meilleures colorations ont été réalisées après fixation à l'Orth-

Muller ou au Regaud. On peut réaliser les deux réactions : l'eulgen et PAS sur une même coupe, en effectuant l'hydrolyse avant l'oxydation et en colorant au réactif de Schiff après les 2 traitements chimiques (CLERMONT, 1953). Il est recommandé, dans ce cas, de ne pas utiliser la solution réductrice. Nous n'avons cependant, *avec les deux réactions combinées, jamais obtenu d'aussi bons résultats qu'avec chacune, effectuée séparément.* On peut aussi colorer les noyaux par l'hématoxyline ou l'hémalum après traitement au PAS.

2° Numération des cellules dans les coupes histologiques.

Les numérations de cellules dans des coupes histologiques risquent souvent d'être entachées d'erreurs si on ne prend pas certaines précautions. ABERCROMBIE (1946) a fait une étude précise de ces précautions et a proposé une formule permettant de calculer le nombre P de centres nucléaires réellement présents dans une coupe histologique :

$$P = A \frac{E}{E + D} \quad (1)$$

Dans cette formule, A représente le nombre de noyaux effectivement comptés, D le diamètre nucléaire moyen et E l'épaisseur de la coupe histologique. Cette formule suppose que l'on compte tous les noyaux présents dans la coupe, jusqu'aux infiniment petits. Dans les coupes histologiques de testicules, il ne peut en être ainsi pour les spermatogonies : en effet les noyaux ayant un très petit diamètre sont souvent difficilement identifiables, il existe donc en fait un diamètre inférieur au-dessous duquel les noyaux ne sont plus comptés. La formule de ABERCROMBIE devient donc :

$$P = A \frac{E}{E + 2\sqrt{\left(\frac{Dm}{2}\right)^2 - \left(\frac{Di}{2}\right)^2}} \quad (2)$$

dans laquelle :

Dm = diamètre moyen de la population,

Di = diamètre inférieur de la population.

Cette formule d'ailleurs n'est qu'approchée. On peut également, pour vérifier les résultats, compter, lorsque c'est possible, les noyaux dans des coupes histologiques beaucoup plus épaisses que le diamètre nucléaire des cellules considérées. La comparaison des résultats obtenus donne en général une bonne concordance.

D. — TECHNIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

1° Extraction des différentes fractions phosphorées des cellules germinales et des spermatozoïdes, et détermination de leur radioactivité spécifique.

Le ^{32}P , injecté par voie intrapéritonéale à nos animaux sous forme de $\text{PO}_4 \text{HNa}_2$, se trouve incorporé dans différents composés au sein des cellules germinales. Si on veut étudier leur activité spécifique, il est nécessaire de séparer ces différentes fractions. C'est ce que nous avons essayé de faire sur les spermatozoïdes et sur les cellules germinales du testicule.

a) **Extraction et mesure de la radioactivité des différentes fractions phosphorées des homogénats de spermatozoïdes.** — SCHMIDT et THANNHAUSER (1945) furent les premiers à proposer un procédé de fractionnement donnant des résultats satisfaisants. Leur technique a rendu de très grands services, et a été largement utilisée avec ou sans modifications. L'hydrolyse alcaline de l'acide ribonucléique (ARN) donne naissance à des nucléotides cycliques fortement alcali-labiles, tandis que l'acide désoxyribonucléique (ADN) ne subit pas une telle dégradation. Ce dernier peut donc être précipité et séparé en milieu acide après l'hydrolyse alcaline. La même année SCHNEIDER (1945), mettait au point un procédé d'extraction des acides nucléiques par l'acide trichloracétique chaud et, en combinant les 2 techniques (1946), pouvait isoler les fractions ribonucléiques et désoxyribonucléiques avec plus de précision.

La technique de SCHMIDT et THANNHAUSER a été critiquée par DAVIDSON et SMELLIE (1952), HOKIN et HOKIN (1952), DRASHER (1953). En effet, le fractionnement n'est pas parfait, la fraction ARN pouvant être contaminée soit par l'apparition d'une quantité significative de ADN alcali-soluble, soit par du phosphore inorganique, soit par un reliquat de phospholipides. De plus DAVIDSON, FRAZER et HUTCHINSON (1951) ont, avec du P^{32} , montré que la fraction ADN était souvent contaminée elle aussi par du phosphore inorganique déjà sous cette forme au départ ou provenant de l'hydrolyse des phosphoprotéines. Nous verrons par la suite ce qu'il faut penser de ces critiques dans le cas présent.

OGUR et ROSEN (1949, 1950) préconisèrent une nouvelle technique de séparation des acides nucléiques par extraction à l'acide perchlorique à différentes concentrations et à différentes températures. Cette technique donne d'excellents résultats sur les tissus végétaux, mais elle est moins facilement applicable aux tissus animaux car l'acide perchlorique froid extrait aussi de l'ADN en même temps que de l'ARN (HARBERS et NEUMANN, 1954).

Les techniques classiques d'isolement des acides nucléiques sont difficiles à appliquer aux spermatozoïdes de Béliet car leur ADN est

insoluble dans les solutions salines (THOMAS et MAYER, 1949 ; MANN, 1954 ; DALLAM et THOMAS, 1953).

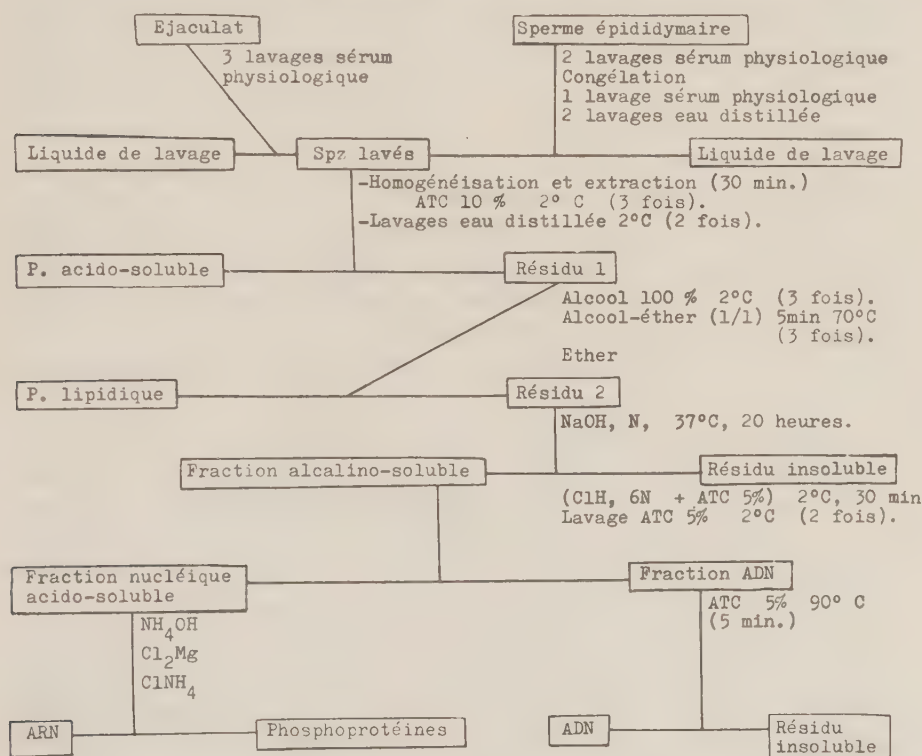
Cependant DALLAM et THOMAS (1953) ont pu isoler l'ADN des spermatozoïdes de Bélier après action de NaOH, 0,1N puis d'une solution à parties égales de NaOH, 2N et ClNa, 2M et plusieurs solubilisations et précipitations successives.

Nous avons surtout eu recours à la technique de SCHMIDT et THANNHAUSER (1945), celle de DALLAM et THOMAS (1953) n'ayant été utilisée qu'occasionnellement. Nous avons donc opéré de la façon suivante :

α) Procédé d'extraction de SCHMIDT et THANNHAUSER (Tableau IV).

TABLEAU IV

Extraction de différentes fractions phosphorées des spermatozoïdes de bélier.



La suspension lavée de spermatozoïdes est homogénéisée dans au moins 10 volumes d'une solution glacée (0, + 2°C) d'acide trichloroacétique (ATC) à 10 p. 100 pendant deux minutes environ, puis laissée au repos pendant 30 minutes à cette même température. Après centrifugation, le résidu est à nouveau extrait deux fois puis lavé avec de l'eau distillée. Ce nombre d'extractions est suffisant pour enlever la presque tota-

lité du P acido-soluble, car la radioactivité de la dernière extraction est extrêmement faible.

Le résidu est suspendu dans 5 volumes d'éthanol 95 p. 100 froid pendant 10 minutes, centrifugé, lavé à nouveau par une même quantité d'éthanol froid afin qu'il ne reste aucune trace d'acide trichloracétique, puis extrait à 3 reprises avec 10 volumes d'un mélange alcool-éther (1/1) bouillant pendant 5 minutes chaque fois, et enfin lavé avec 5 volumes d'éther.

100 mg de résidu sec ainsi délipidé sont alors hydrolysés avec 10 ml d'une solution de NaOH, N à 37°C pendant 20 heures. Après centrifugation, l'ADN et les protéines sont précipités avec 0,2 volume ClH, 6N + 1 volume ATC 5 p. 100 froid. Ce précipité, lavé deux fois avec 3 ml de ATC 5 p. 100 froid, est extrait par 5 ml d'acide trichloracétique 5 p. 100 à 90°C.

β) *Détermination du phosphore* : La détermination de la quantité de phosphore dans chacune des fractions extraites a été effectuée selon la technique d'ALLEN (1940).

Une partie aliquote est mise à minéraliser pendant 1 heure avec le mélange suivant :

Acide sulfurique : 3 parties,

Acide perchlorique : 2 parties.

Puis on ajoute 2 parties ou plus d'acide nitrique, selon la quantité de matière organique à détruire. Après refroidissement on introduit une solution de molybdate d'ammonium à 8,3 p. 100 (1 ml) puis le réactif d'ALLEN (2 ml) et on complète le volume à 25 ml avec de l'eau distillée. Le développement de la coloration s'effectue à l'obscurité, puis les mesures sont faites 10 minutes après.

γ) *Mesure de la radioactivité* : Une partie aliquote de la fraction extraite est mise dans une coupelle en verre et séchée sous une lampe infrarouge. Il est nécessaire que l'étalement de cette fraction soit bien uniforme dans la coupelle. Après séchage la coupelle est portée sous un compteur cloche à atmosphère d'halogène avec une géométrie constante et la radioactivité mesurée.

Les résultats ont toujours été rapportés au jour de l'injection.

b) **Extraction des différentes fractions phosphorées des coupes histologiques pour l'autoradiographie.** — Une revue récente et critique des techniques utilisables a été faite par HARBERS et NEUMANN (1954).

Une partie du ^{32}P est perdue au cours des différentes opérations histologiques (fixation, inclusion, déparaffinage...) : phosphore inorganique, phosphore acido-soluble et un peu de phosphore lipidique (VINCENT, 1954 ; KAMINSKY, 1955). Cependant il reste encore une grande quantité de ^{32}P , surtout dans les acides nucléiques et les phosphoprotéines. Les techniques utilisées procèdent alors soit par extraction enzymatique, soit par extraction chimique.

L'utilisation de la ribonucléase est théoriquement parfaite. Cependant il est nécessaire de prendre un certain nombre de précautions : l'enzyme doit être exempt de désoxyribonucléase, ce qui est parfois difficile à obtenir ; d'autre part la digestion enzymatique de l'acide ribonucléique n'est pas totale. Il reste toujours un noyau, un « core » résistant à l'action de l'enzyme. Les conditions de son utilisation ont été discutées par VERCAUTEREN (1950). De même la désoxyribonucléase donne parfois des résultats médiocres en cytochimie. Nous avons cependant obtenu de bons résultats en utilisant cette dernière dissoute à 0,2 p. 100 dans un tampon véronal sur des coupes à 37°C pendant 5 heures.

C'est pourquoi les extractions chimiques sont très souvent utilisées : c'est à elles que nous avons fait appel. L'hydrolyse alcaline de SCHMIDT et THANNHAUSER (1945) a été adaptée aux coupes histologiques par SULKIN (1951). Cet auteur extrait l'ARN en traitant les coupes par une solution de KOH, 0,1 N pendant 45 minutes à la température de la pièce. Il ne constate pas d'extraction de l'ADN. Cependant HARBERS et NEUMANN (1953) contestent ce dernier fait et trouvent que les noyaux subissent une légère perte en ADN.

L'action des différents acides a été revue par ATKINSON (1952). SULKIN et KUNTZ (1950) ont utilisé sur les tissus animaux la technique préconisée par ERICKSON, SACHS et OGUR (1949) sur les tissus végétaux : c'est-à-dire l'extraction différentielle des acides nucléiques par l'acide perchlorique. Mais la technique la plus intéressante semble être l'élimination du phosphore ribonucléique par l'acide chlorhydrique. En effet, de nombreux auteurs (ELY et ROSS, 1949 ; VENDRELY-RENDAVEL, 1949 ; POUYET 1949) ont montré qu'une hydrolyse avec HCl normal à 60°C pendant 10 minutes enlevait tout l'ARN des coupes histologiques, sans toucher à l'ADN. Après les traitements histologiques classiques, l'extraction des lipides avec un mélange d'alcool-éther ou avec de la pyridine, et l'hydrolyse chlorhydrique, seul le phosphore contenu dans l'ADN reste sur les coupes. Le phosphore de l'ADN n'est extrait qu'après 12 minutes d'hydrolyse, et, 2 à 10 p. 100 seulement du phosphore désoxyribonucléique sont solubilisés après 13 minutes, (SIBATANI et FUKUDA, 1953). Cette technique possède en outre l'avantage de permettre la coloration de Feulgen.

Nous avons utilisé les 3 réactifs : KOH, ClO_4H , et ClH selon les indications que nous venons de donner, sur des coupes ayant subi ou non l'action de l'alcool-éther (1/1) à 70°C pendant 10 minutes. Après chaque traitement, les coupes étaient très soigneusement lavées dans l'eau distillée.

2^o Mise en évidence du ^{32}P dans les cellules par la technique autoradiographique.

L'autoradiographie, technique histo- ou cytochimique récente, est basée sur la propriété qu'ont les particules ionisantes (rayons α , β ou γ) émises par les corps radioactifs d'impressionner les émulsions photographiques. Il est souvent commode, parfois même c'est la seule méthode, d'utiliser cette propriété pour détecter et localiser les radioéléments contenus dans différentes cellules. Des mises au point ont été faites récemment par FARRAGGI (1952), DONIACH, HOWARD et PELC (1953), BOYD (1955).

Nous avons d'abord utilisé l'émulsion pelliculable Kodak pour la détection du ^{32}P dans la masse de spermatozoïdes rassemblés dans le canal épидидymaire selon la technique de DONIACH et PELC (1950) et de ZAJDELA (1951). Mais cette technique dans laquelle on compte les grains d'argent impressionnés, est assez difficile à utiliser avec le ^{32}P par suite de la faible épaisseur de l'émulsion. En effet, HERZ (1951), LAMERTON (1953), ont déterminé pour le film pelliculable Kodak le rendement en grains d'argent des particules β émises : si pour ^{35}S il est de 1,8 grains par particule β émise, pour ^{32}P il n'est que de 0,5 à 0,77 grains. DONIACH et PELC (1950) ont déterminé qu'une concentration minimum de 10 grains par 100 μ^2 au-dessus du « bruit de fond » est nécessaire pour que l'autoradiographie soit positive. Il faut donc que plus de 40 atomes de ^{32}P se désintègrent dans cette surface. Une telle radioactivité est souvent difficile à obtenir surtout si l'on étudie l'incorporation du ^{32}P dans l'acide désoxyribonucléique des cellules d'animaux de la taille des Ovins.

Plus récemment, des émulsions nucléaires extrêmement sensibles, pouvant détecter les traces d'électrons d'énergie élevée, ont été mises au point (BOYD et LEVI, 1950 ; LEVI, 1954). La plupart des auteurs s'accordent actuellement à reconnaître la grande efficacité de l'émulsion Ilford G5. C'est celle qui nous a donné les meilleurs résultats. Outre sa sensibilité, elle présente l'avantage de pouvoir être coulée sous différentes épaisseurs et permet d'adapter ainsi l'épaisseur de la couche d'émulsion à la radioactivité des coupes et à la précision d'examen que l'on désire.

Nous avons essayé d'utiliser cette émulsion sous couche épaisse selon la technique de LEVI (1954) mais il était alors difficile d'examiner les cellules testiculaires. C'est pourquoi nous avons préféré augmenter les doses de ^{32}P injectées aux animaux et diminuer l'épaisseur de l'émulsion. Les meilleurs résultats nous ont été donnés par l'obtention d'une couche d'émulsion séchée et développée de 5 à 8 μ d'épaisseur.

L'émulsion est rendue liquide par chauffage à 50°C, puis conservée à 40, 45°C. Quelques gouttes sont alors déposées sur les préparations tièdes, et étalées à l'aide d'un agitateur. L'émulsion est ensuite gélifiée,

en abaissant la température, et séchée pendant une nuit à l'aide d'un ventilateur. Les lames sont conservées en boîtes, dans un « château » de plomb à $+ 10^{\circ}\text{C}$. Du chlorure de calcium maintient un taux d'humidité constant à l'intérieur des boîtes.

Après 10 à 30 jours d'exposition, les lames sont révélées à l'aide d'un révélateur à l'amidol (FARAGGI, 1952) pendant 20 minutes à $10-20^{\circ}\text{C}$. La composition de ce révélateur est la suivante :

Sulfite de sodium anhydre	18 gr
Bromure de potassium à 10 %	8 cc
Amidol	4,5 gr
Eau distillée q.s.p.....	1 000 cc

Ce révélateur doit être utilisé immédiatement.

Puis les préparations rincées sont passées pendant 5 à 8 minutes dans un bain d'arrêt d'acide acétique 2 p. 100, et enfin fixées, après un nouveau rinçage, pendant 2 à 3 heures dans une solution d'hyposulfite de sodium à 300 grammes par litre. Après lavage pendant 2 à 3 heures à l'eau du robinet, les coupes sont colorées à l'hémalum pendant 30 minutes, puis, après un nouveau lavage, séchées à l'aide d'un ventilateur et examinées.

PREMIÈRE PARTIE

DÉFINITION ET ÉTUDE HISTOLOGIQUE DU CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE

I. — ASSOCIATIONS CELLULAIRES ET CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE

A. — DÉFINITIONS

Une section orthogonale quelconque d'un tube séminifère de testicule de Bélier contient plusieurs générations de cellules germinales superposées : une ou deux couches de spermatogonies, de spermatocytes, de spermatides et parfois aussi une couche de spermatozoïdes. Cela provient de ce que « la néoformation de nouvelles lignées spermatiques, c'est-à-dire de l'ensemble des générations cellulaires depuis la spermatogonie-souche jusqu'au spermatozoïde, se poursuit sur toute la surface interne de la membrane du tube, sans attendre que les lignées précédentes aient achevé leur évolution et aient disparu sous forme de spermatozoïdes ». (REGAUD, 1901).

On constate en outre que le développement de n'importe quelle génération de cellules germinales est étroitement lié à celui des autres générations situées dans la même section orthogonale du tube. Il en résulte donc à l'intérieur des tubes séminifères une organisation en associations cellulaires constantes, qui se succèdent dans le temps, en un point donné du tube séminifère, selon un ordre parfaitement régulier, caractérisant ainsi un cycle de l'épithélium séminifère.

De plus, dès 1871, VON EBNER montre chez le Rat, que cette succession des associations cellulaires a lieu non seulement en un point donné du tube séminifère, mais aussi le long de celui-ci : en suivant le tube sur une longueur suffisante on retrouve la combinaison choisie à l'origine ; c'est *l'onde spermatogénétique*. Ainsi « l'onde est dans l'espace ce que le cycle est dans le temps » (REGAUD, 1901). En outre, REGAUD (1900) trouva que cette succession dans l'espace ne se fait pas selon une génératrice du tube mais « suivant une bande enroulée en hélice d'un bout à l'autre du tube séminifère ».

Cependant, plusieurs auteurs (CURTIS, 1918; CLELAND, 1951) ont à l'aide de reconstructions graphiques de tubes séminifères de Souris,

de Lapin, de Chien, de Cobaye, trouvé qu'il existe de nombreuses irrégularités dans la propagation de cette onde et que la découverte de VON EBNER n'est que partiellement valable, sur des segments autonomes de tubes séminifères. Ainsi, il semble bien que ce soit surtout *la succession dans le temps* qui confère un *caractère cyclique* à la spermatogénèse.

Mais une certaine confusion s'étant créée dans les termes nous pensons qu'il est utile de donner les définitions de ceux que nous utiliserons.

La *durée du cycle spermatogénétique* est l'intervalle de temps compris entre l'apparition de la spermatogonie-souche et l'élimination des spermatozoïdes issus de celle-ci. Elle représente la durée de formation de la lignée spermatogénétique.

Le *cycle de l'épithélium séminifère* est constitué par la série de changements se succédant dans une aire donnée de l'épithélium séminifère entre deux apparitions successives de la même association cellulaire (LEBLOND et CLERMONT, 1952 b).

B. — ÉTUDE DU CYCLE DE L'ÉPITHÉLIUM SÉMINIFÈRE

1^o Historique.

Les associations cellulaires identifiées à l'intérieur d'un cycle de l'épithélium séminifère servent à diviser ce cycle en phases ou stades permettant un découpage chronologique de celui-ci. Le nombre de stades identifiés par les différents auteurs est très variable, car ceux-ci n'ont pas tous utilisé les mêmes critères, ni choisi la même origine. Pour les uns, l'origine coïncide avec l'apparition d'une couche uniforme de spermatozoïdes, à l'intérieur de l'épithélium séminifère (BROWN, 1885 ; WALDEYER, 1906 ; MOREE, 1947) ; pour d'autres, le cycle commence aussitôt après la disparition des spermatozoïdes de l'épithélium séminifère (BENDA, 1887 ; REGAUD, 1901 ; CURTIS, 1918 ; ROOSEN-RUNGE et GIESEL, 1950) ; pour d'autres enfin, il commence au moment de la deuxième division de maturation des spermatocytes ou de l'apparition d'une nouvelle génération de spermatides (LENHOSSEK, 1898 ; VAN HOOF, 1912 ; SCHOENFELD, 1901 ; CLERMONT, 1954).

Les critères utilisés pour établir une telle classification sont divers : multiplications goniales, évolution de l'élément chromatique des spermatocytes, spermiogénèse, présence ou absence de spermatozoïdes, groupement des cellules germinales entre elles et avec les noyaux de Sertoli. La plupart des auteurs utilisent d'ailleurs plusieurs critères pour décrire leurs stades. Seuls, LEBLOND et CLERMONT (1952 b) préconisent une classification basée sur un critère homogène : le développement de l'acrosome au cours de la spermiogénèse. Ceci leur permet de définir avec précision 14 stades dans le cycle de l'épithélium séminifère du Rat.

Nous avons cherché à établir un tableau de correspondance des classifications proposées par les différents auteurs qui ont étudié la spermatogenèse (tableau V).

Mais un tel travail comporte nécessairement des imprécisions, il est en effet difficile d'effectuer des comparaisons par suite de la diversité des critères et des espèces étudiées; nous nous sommes attachés à les réduire au minimum. MOREE (1947), puis LEBLOND et CLERMONT (1952 *b*) avaient déjà essayé d'établir une telle correspondance, mais dans les deux cas, les tableaux étaient incomplets et, de plus, dans celui de MOREE, il nous a semblé s'être glissées quelques erreurs.

TABLEAU V

Correspondance des stades du cycle de l'épithélium séminifère, décrits par divers auteurs

Année	Auteur	Stades								Total
1956.	ORTAVANT	I	2	3	4	5	6	7	8	8
1950.	ROOSEN-RUNGE et GIESEL	I	2	3	4	5	6	7	8	8
1918.	CURTIS	I	2	3	4	5	6	7	8	8
1900.	REGAUD	I	2	3-4	5-6	7	7-8	9-10	11-12	12
1887.	BENDA	I	II-III	III-IV	V	VI	VI	VI	VI	6
1947.	MOREE	3	4-5	5-6-7	8-9-10	11	12	12-1	1-2	12
1906.	WALDEYER	I	2	3-4	5	6	6	6	6-1	6
1888.	VON EBNER	4	5	6-7	8-9	10	10-11	12-1	2-3	12
1885.	BROWN	I	2	3-4-5	6	7	8-9	9	10-1	10
1945.	ROLSHOVEN	III	III	IV	IV	V	V	VI-I	1-11	6
1952b	LEBLOND et CLERMONT	IX	X-XI	XII-XIII	XIV	I	II-III-IV-V	VI-VII	VII-VIII	14
1912.	VAN HOOF	V	V	VI-VII-VIII-IX	X-XI-I	II	III	IV	IV	11
1902.	SCHOENFELD	2	2	3-4-5	6	(1)	(1)	1	1	6
1898.	LENHOSSEK	(3)	3	4	5	1	1	(1)	2	5
1953.	ESDANIAN	5	1	1	2-3	3	4	4	4-5	5

2° Définition des stades du cycle de l'épithélium séminifère chez le Bélier.

Pour notre travail sur le Bélier, nous avons choisi une classification identique à celles de CURTIS (1918) et de ROOSEN-RUNGE et GIESEL (1950). En effet, après de légères modifications, elle présente une précision suffisante (8 stades) et, surtout, chaque stade est très facile à déterminer, même avec un objectif à faible grossissement. Il est simplement nécessaire d'avoir recours à un objectif à immersion lorsque se présentent des spermatozoïdes de transition entre les stades 5 et 6. Cette classification permet ainsi un travail très rapide. De plus, elle s'appuie sur les grands événements de la spermatogenèse.

Voici d'ailleurs comment sont définis les stades que nous avons utilisés :

Le *stade* 1 va du début de l'absence de spermatozoïdes attachés à

l'épithélium séminifère au début de l'élongation et de l'augmentation de colorabilité du noyau des spermatides. Ce stade est caractérisé par la présence des spermatides à noyaux ronds dans lesquels la chromatine ne se colore pas en une masse homogène (fig. 1 et 3).

Stade 2 : du début de l'élongation des noyaux et de l'augmentation de colorabilité de la chromatine des spermatides, jusqu'à la formation des faisceaux de ces spermatides (fig. 2 et 4).

Stade 3 : du début de la formation des faisceaux de spermatides jusqu'au commencement de la première division de maturation des spermatocytes (fig. 5).

Stade 4 : du début de la première division de maturation des spermatocytes jusqu'à la fin de la deuxième (fig. 6, 7, 8).

Le *stade 5* commence immédiatement après la fin de la deuxième division de maturation et finit au moment où la chromatine des noyaux des spermatides nouvellement formées devient poussiéreuse (fig. 9).

Les noyaux des nouvelles spermatides présentent, à ce stade, des caryosomes (5 à 6) reliés par des filaments formant un réseau lâche (fig. 11).

Le *stade 6* va du début de la condensation en poussière de la chromatine des noyaux des nouvelles spermatides jusqu'au moment où plus *aucun* faisceau des spermatides de la génération précédente n'est en contact avec les noyaux de Sertoli (fig. 10 et 12).

Le *stade 7* : du début à la fin du mouvement des faisceaux de spermatozoïdes vers la lumière. Ce stade se termine quand tous les spermatozoïdes bordent la lumière de l'épithélium séminifère (fig. 13).

Stade 8 : de la fin du mouvement centripète des spermatozoïdes jusqu'au moment où aucun spermatozoïde n'est attaché à l'épithélium séminifère. C'est le stade de l'élimination des spermatozoïdes (fig. 14 et 15).

Les critères donnés par CURTIS (1918), ROOSEN-RUNGE et GIESEL (1950) pour différencier les stades 5, 6 et 7 (mouvement centrifuge, puis centripète, des faisceaux de spermatozoïdes) ont été remplacés par des critères plus précis portant sur les noyaux des spermatides nouvellement formées (apparence de la chromatine). Il est en effet très difficile de distinguer si les faisceaux de spermatozoïdes accomplissent un mouvement centrifuge ou un mouvement centripète.

3° Fréquence des stades de l'épithélium séminifère chez le Bélier.

Nous avons cherché à déterminer la fréquence de chacun des stades, donc leur durée relative chez divers Béliers au cours de la saison sexuelle. Dans ce but, nous avons classé dans tel ou tel stade les sections orthogonales des différents tubes séminifères rencontrés sur une coupe. Pour divers stades (en particulier les stades 2, 4 et 5), on rencontre parfois sur certaines sections transversales la juxtaposition des images de deux

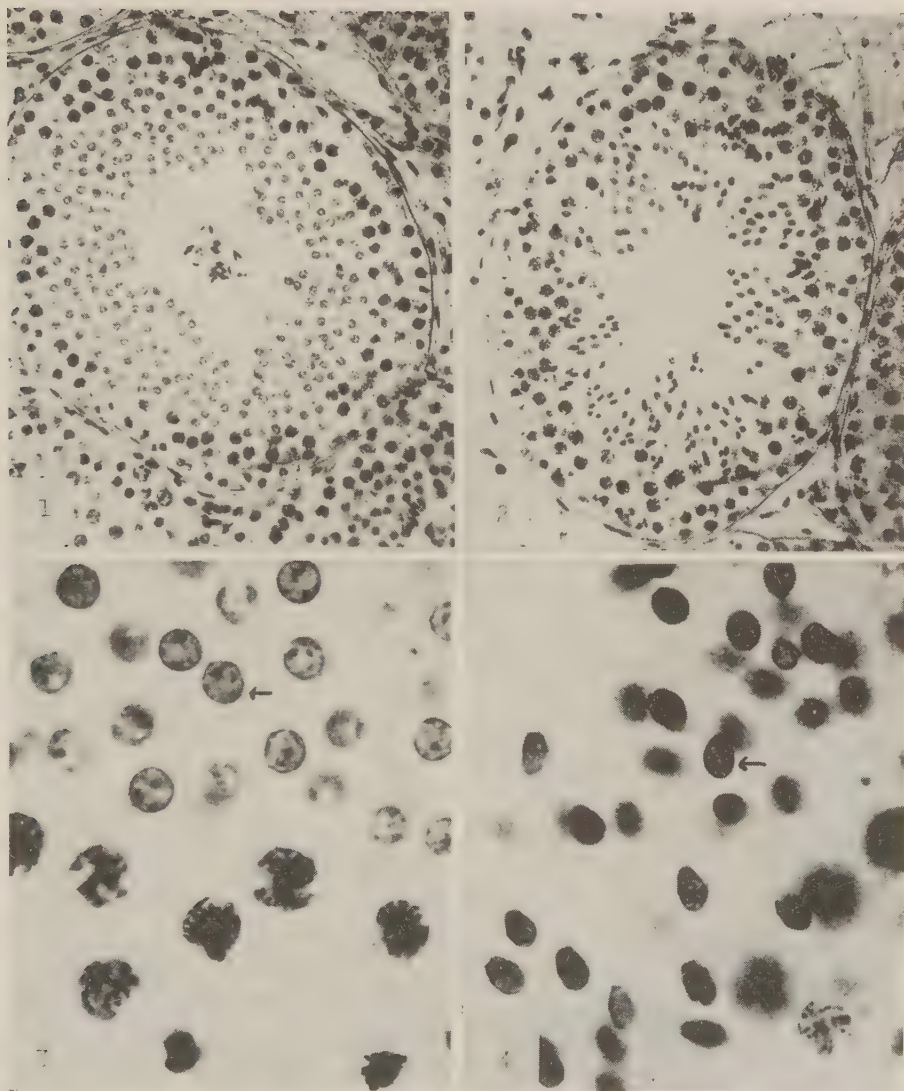
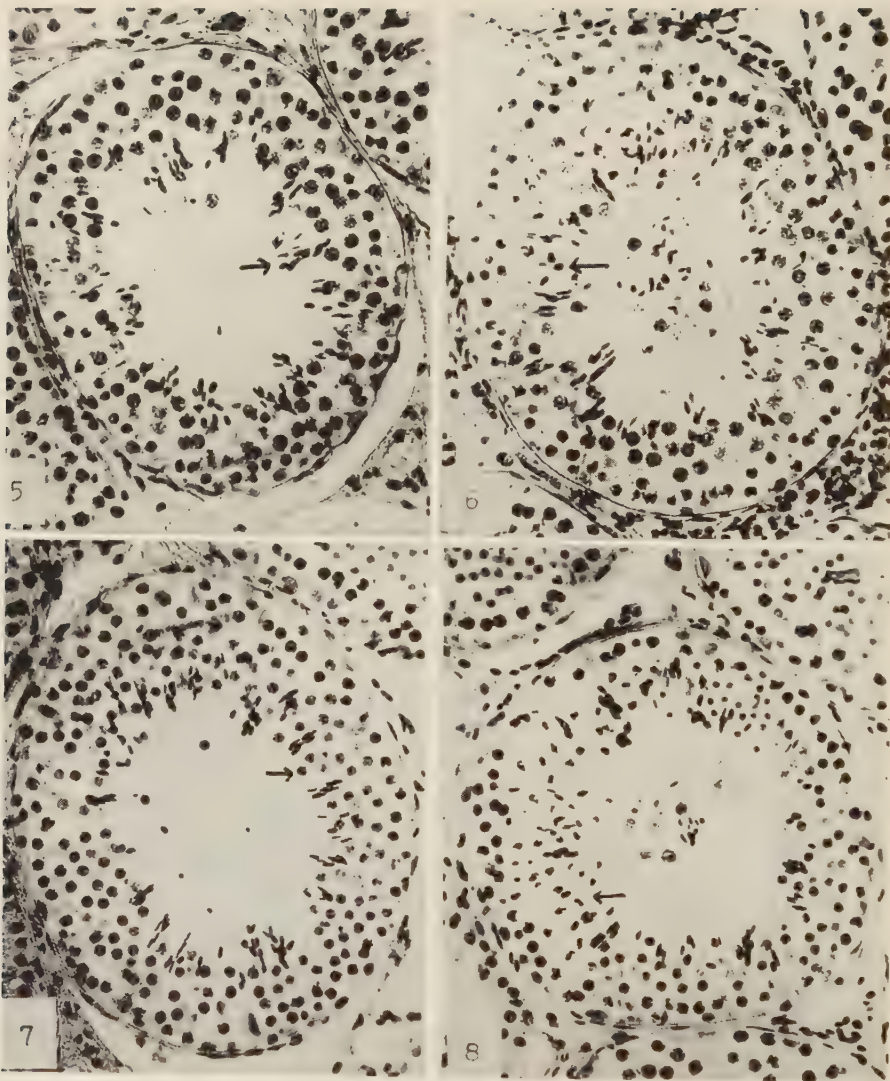


FIG. 1. — *Tube séminifère au stade 1.* Les spermatozoïdes ont été éliminés dans la lumière du tube séminifère. Les spermatides possèdent un noyau rond ($\times 230$).

FIG. 2. — *Tube séminifère au stade 2.* Les noyaux des spermatides s'allongent ($\times 230$).

FIG. 3 et 4. — Les noyaux ronds des spermatides (fig. 3) s'allongent et leur intensité de coloration augmente (fig. 4) ($\times 1150$).



- FIG. 5. — Tube séminifère au stade 3. Les spermatides forment des faisceaux dont la pointe se dirige vers les noyaux de Sertoli ($\times 230$).
- FIG. 6. — Tube séminifère au stade 4 a. Apparition des divisions meiotiques ($\times 230$).
- FIG. 7. — Tube séminifère au stade 4 b. Les spermatocytes du 2^e ordre ont remplacé les vieux spermatocytes de 1^{er} ordre venant de se diviser ($\times 230$).
- FIG. 8. — Tube séminifère au stade 4 c. Apparition des 2^e divisions de maturation ($\times 230$).

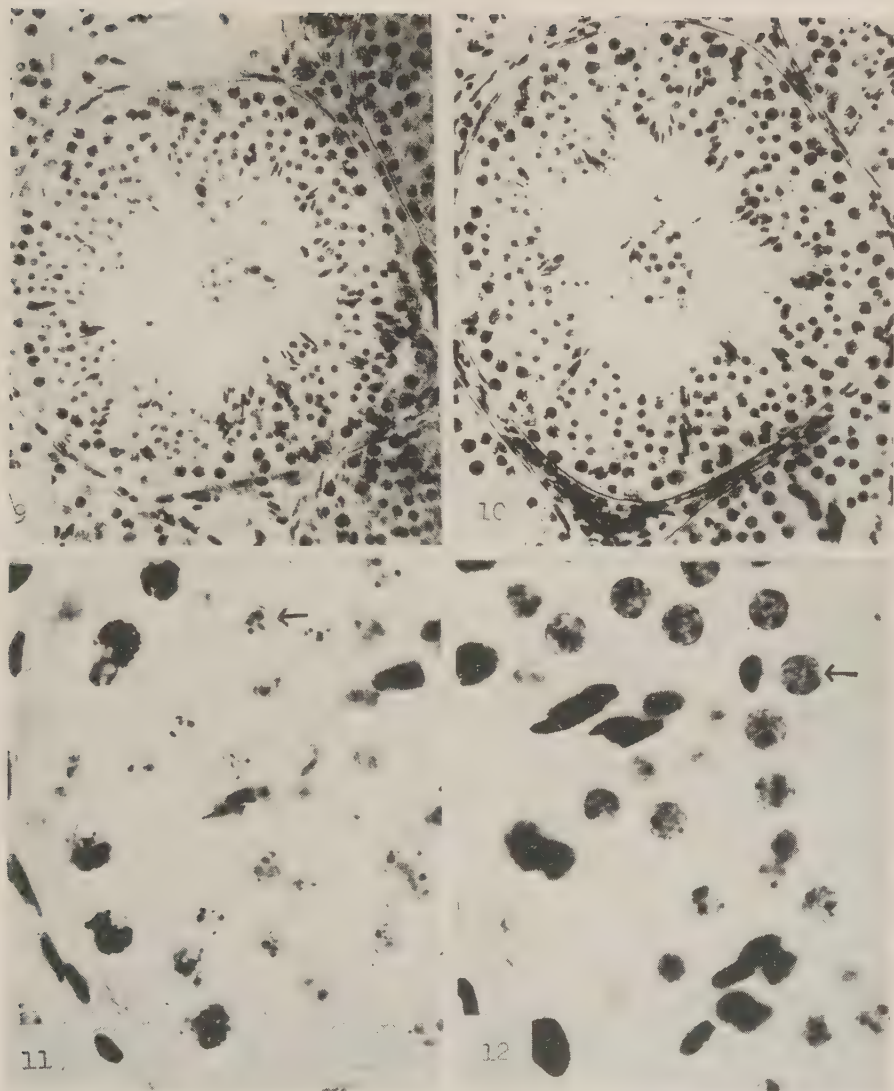
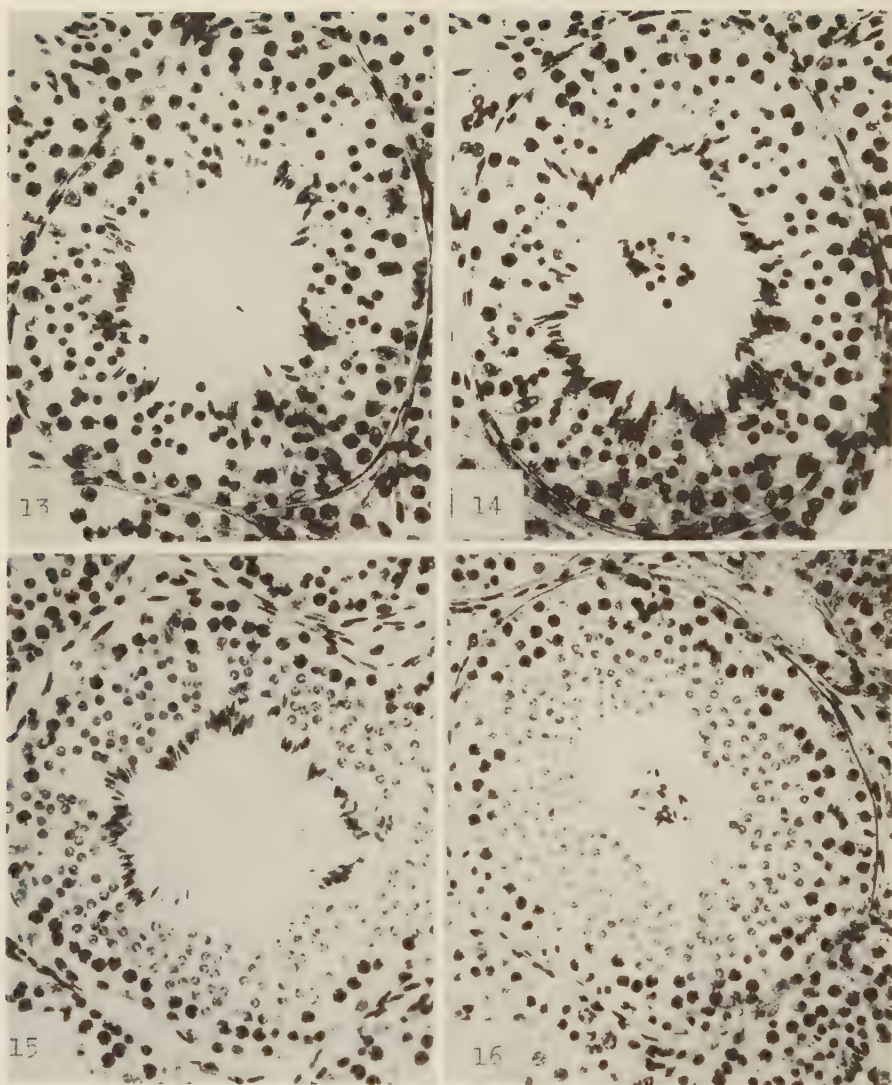


FIG. 9. — *Tube séminifère au stade 5*. Les nouvelles spermatides ont remplacé complètement les spermatocytes de 2^e ordre. Le noyau de ces jeunes spermatides présente un aspect réticulé ($\times 230$).

FIG. 10. — *Tube séminifère au stade 6*. La chromatine des noyaux des jeunes spermatides devient poussiéreuse cependant que les faisceaux des vieilles spermatides restent toujours en « copulation » avec les noyaux de Sertoli ($\times 230$).

FIG. 11. — *Détail d'un fragment de tube séminifère au stade 5* ($\times 1150$).

FIG. 12. — *Détail d'un fragment de tube séminifère au stade 6* faisant apparaître l'évolution de l'aspect des noyaux des jeunes spermatides réticulés au stade 5 (fig. 11) et poussiéreux au stade 6 ($\times 1150$).



- FIG. 13. — Tube séminifère au stade 7. Les faisceaux des vieilles spermatides effectuent un mouvement centripète ($\times 230$).
- FIG. 14. — Tube séminifère au stade 8a. Les faisceaux de vieilles spermatides ont atteint le bord de la lumière du tube séminifère ($\times 230$).
- FIG. 15. — Tube séminifère au stade 8b. Les spermatozoïdes sont expulsés dans la lumière du tube séminifère ($\times 230$).
- FIG. 16. — Tube séminifère au stade 1. Après l'expulsion des spermatozoïdes, l'épithélium séminifère est de nouveau au stade 1 ($\times 230$).

stades différents. Ce phénomène est le résultat de la progression hélicoïdale de l'onde spermatogénétique d'après REGAUD (1900) ou de légères différences dans la durée du cycle spermatogénétique d'après CLELAND (1951). Nous avons classé de telles sections dans le stade couvrant la plus grande superficie du tube. Les fréquences ont été calculées sur environ 400 sections orthogonales de tubes séminifères pour chaque bélier ainsi que le montre le tableau VI.

TABLEAU VI

Fréquence des stades du cycle de l'épithélium séminifère chez des Béliers abattus à quelques heures d'intervalle (1 seul observateur).

Stades	Nombre de sections transversales					% de sections transversales					Moyenne
	Bélier 13	Bélier 92	Bélier 95	Bélier 96	Bélier 101	Bélier 13	Bélier 92	Bélier 95	Bélier 96	Bélier 101	
1	93	88	140	125	118	25,0	21,4	25,2	28,9	26,5	25,4 ± 1,2
2	33	26	34	25	26	8,8	6,3	6,2	5,8	5,8	6,6 ± 0,6
3	58	60	95	73	74	15,6	14,6	17,1	16,8	16,6	16,2 ± 0,5
4	30	35	43	37	37	8,1	8,5	7,8	8,5	8,3	8,2 ± 0,2
5	30	29	38	25	23	8,1	7,0	6,9	5,8	5,2	6,6 ± 0,5
6	52	84	91	64	79	14,0	20,3	16,4	14,8	17,8	16,7 ± 0,8
7	30	38	39	36	36	8,1	9,2	7,0	8,3	8,1	8,1 ± 0,4
8	46	52	74	48	52	12,3	12,6	13,4	11,1	11,7	12,2 ± 0,4
Total ...	372	412	554	433	445	100	100	100	100	100	100,0

On remarque que la fréquence, donc la durée des différents stades de la spermatogenèse, est remarquablement constante chez les différents Béliers abattus au même moment, les variations observées étant simplement d'ordre statistique. Cependant en abattant des animaux à différents moments du cycle diurne nous avons constaté quelques variations dans la fréquence des stades : il y avait en particulier une légère augmentation de la fréquence du stade 4 au cours de la nuit. Cependant les différences enregistrées sont assez faibles. La moyenne des fréquences de chacun des stades de l'épithélium séminifère effectuée sur 19 animaux est consignée dans le tableau VII. Les deux stades les plus longs sont les stades 1 et 3, le stade 5 étant le plus court.

On remarque, immédiatement, qu'une des principales différences réside dans la durée du stade 1 : chez le Rat, ce stade est très court puisqu'il représente moins de 4 p. 100 du cycle de l'épithélium séminifère, alors que, chez le Bélier, il occupe près du quart de ce cycle. Par contre les stades 6, 7 et 8 sont près de 2 fois plus longs chez le Rat que chez le Bélier, et des résultats préliminaires nous permettent de penser que le Taureau se comporte comme le Bélier. Or, ces stades sont définis par la migration des spermatozoïdes vers la lumière des tubes séminifères. Ceci indique que les relations entre le syncytium de Sertoli et les spermatides sont

beaucoup plus étroites chez le Rat que chez le Bélier. Cependant, il semble bien que chez le Rat, comme chez le Bélier, les variations

TABLEAU VII

Comparaison du cycle de l'épithélium séminifère chez le Bélier et le Rat.

Stades	Rat (d'après)		Bélier
	ROOSEN-RUNGE et GIESEL (1950)	LEBLOND et CLERMONT (1952) (Calculés)	ORTAVANT (1956)
1	3,7	2,50	21,7 $\pm$ 0,9
2	4,8	4,97	10,6 $\pm$ 0,8
3	14,5	17,30	18,4 $\pm$ 0,6
4	4,8	4,95	10,5 $\pm$ 0,5
5	9,4	12,12	4,2 $\pm$ 0,4
6	33,6	19,78	13,1 $\pm$ 0,8
7	11,6	20,10	10,8 $\pm$ 0,7
8	17,6	18,47	10,3 $\pm$ 0,6

observées d'un animal à l'autre dans la fréquence des différents stades soient faibles. Ceci prouve qu'au sein d'une même espèce, le cycle de l'épithélium séminifère se déroule avec une extrême rigidité.

C. — LE CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE REPRÉSENTE-T-IL UNE CONSTANTE BIOLOGIQUE

Cette rigidité dans le déroulement du cycle de l'épithélium séminifère pose un problème biologique important.

CLELAND (1951), niant la constance de la durée du cycle spermatogénétique, prétend que la présence des différents stades le long d'un tube séminifère résulte de variations de la durée du cycle spermatogénétique aux différents points de ce tube : de faibles différences de durée du cycle spermatogénétique entre 2 zones voisines du tube séminifère, en se totalisant au cours des cycles successifs, peuvent créer une différence de phase entre les deux zones.

Il est cependant difficile d'admettre que la régularité des associations cellulaires rencontrées dans les tubes séminifères et la constance de chacun des stades chez différents Rats (LEBLOND et CLERMONT, 1952 *b*) et chez les différents Béliers que nous avons examinés puissent se réaliser s'il existait des durées variables du cycle spermatogénétique, c'est-à-dire si chaque processus simple de ce cycle n'avait pas une durée constante.

C'est pourquoi nous avons pensé que la durée du cycle spermatogénétique représente une constante biologique et qu'il est important de l'étudier. Nous chercherons d'abord à en définir les différents éléments, puis nous essaierons de démontrer la constance de sa durée.

II. — ORIGINE DU CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE ÉTUDE DES GÉNÉRATIONS SPERMATOGONIALES

Nous avons défini le cycle spermatogénétique comme l'ensemble des processus compris entre l'apparition de la spermatogonie-souche et l'élimination dans la lumière des tubes séminifères des spermatozoïdes issus de celles-ci. Toute étude sur la durée du cycle spermatogénétique ne pourra donc être abordée qu'après avoir fixé l'origine de celui-ci, ce qui revient à déterminer le mode de renouvellement des cellules germinales souches.

A. — HISTORIQUE

1^o Les spermatogonies. Définition et classification.

Le premier auteur ayant utilisé le terme de *spermatogonie* est VON LA VALLETTE SAINT-GEORGES (1876) qui l'a défini comme le plus jeune stade des cellules spermatiques. Mais VON LA VALLETTE SAINT-GEORGES donne ce nom aux cellules ramifiées de Sertoli qu'il considère comme les ancêtres des spermatogonies (spermatides) et non aux cellules germinatives de Sertoli (1874) qui, d'après lui, sont des cellules folliculaires ne prenant pas part à la formation des spermatozoïdes. Néanmoins, à sa suite, le terme de spermatogonie a été conservé par la plupart des auteurs et appliqué, non aux cellules ramifiées de Sertoli, mais aux autres cellules de la couche pariétale.

Les premières idées saines émises sur l'origine des cellules germinales mâles se trouvent dans les travaux de SERTOLI (1874), RENSON (1882) et surtout BROWN (1885). Ce dernier auteur précise l'origine du cycle en décrivant les « spore-cells » à noyaux grands, pâles, homogènes en apparence, à chromatine disposée en réseau fin : ce sont les cellules d'où dérivent toutes les autres cellules du tube séminifère, sauf les cellules de support (cellules de Sertoli). BENDA (1887) confirme les travaux de BROWN, mais c'est surtout REGAUD (1901) qui apporte de nouveaux éléments à la solution de ce problème. REGAUD distingue deux catégories de spermatogonies :

— les *spermatogonies poussiéreuses* (spores-cells de BROWN, cellules aa de BENDA), pauvres en cytoplasme, à noyau semé de grains très fins.

— les *spermatogonies croûteuses* provenant de la division des précédentes. REGAUD est le premier auteur à décrire d'une façon précise les spermatogonies croûteuses que les auteurs précédents confondaient avec les très jeunes spermatocytes de 1^{er} ordre, produits de leur division. Ce sont des cellules dont la membrane nucléaire est épaissie, à chromatine répartie en croûtes minces sous la membrane.

Presque en même temps, SCHOENFELD (1901), chez le Taureau, décrit sa « *cellule indifférente* », volumineuse, à noyau arrondi ou légèrement ellipsoïde, possédant un gros nucléole plasmatique en son centre. Les granulations chromatiques réparties autour du nucléole donnent au noyau un aspect poussiéreux. C'est, d'après cet auteur, la cellule souche des spermatogonies et il est le premier à donner une généalogie à peu près correcte des cellules germinales mâles.

Enfin, en 1918, ALLEN propose une terminologie différente pour les spermatogonies : il les classe en *spermatogonies A* et en *spermatogonies B*. La spermatogonie A correspond à la « *spore-cell* » de BROWN, à la spermatogonie poussiéreuse de REGAUD, à la cellule indifférente de SCHOENFELD ; les spermatogonies de type B correspondent aux spermatogonies croûteuses de REGAUD. En réalité, ALLEN (1918) dans ses descriptions ne semble pas avoir différencié les jeunes spermatocytes des spermatogonies B.

Depuis, beaucoup d'auteurs, dont ROOSEN-RUNGE et GIESEL (1950) et CLERMONT et LEBLOND (1953) ont utilisé la terminologie préconisée par ALLEN (1918), CLERMONT et LEBLOND (1953) y ajoutant cependant une catégorie de *spermatogonies intermédiaires*.

On peut donc actuellement définir les *spermatogonies* comme l'ensemble des cellules germinales du tube séminifère précédant la première génération de spermatocytes de premier ordre.

2° Le renouvellement des spermatogonies.

Plusieurs théories ont été proposées pour expliquer l'origine et le renouvellement des spermatogonies dans le tube séminifère adulte.

La plupart des auteurs, nous l'avons vu, admettent l'existence de deux catégories de spermatogonies au moins, mais les spermatogonies de type B prenant naissance à partir des spermatogonies de type A, le problème est donc limité à la genèse et au renouvellement des spermatogonies A.

Une première théorie postule la transformation de cellules ou de débris cellulaires voisins. ROOSEN-RUNGE et GIESEL (1950) font allusion à cette possibilité mais la considèrent comme accessoire : l'origine résidant dans de petites cellules plates reposant sur la membrane basale. Par contre, STROGANOVA (1952) et ESDANIAN (1953) considèrent comme seule source de spermatogonies, les corps cytoplasmiques résiduels de la spermiogenèse (STROGANOVA) ou les parties apicales des cellules de Sertoli (ESDANIAN). En effet, d'après ces deux auteurs, ces gouttes protoplasmiques constituent le point de départ des futures spermatogonies : dans la phase protoplasmique, constituée surtout par de l'acide ribonucléique, apparaît, au centre, une autre phase contenant de l'acide désoxyribonu-

cléique dont la quantité augmente peu à peu et forme un noyau. D'après STROGANOVA, ces transformations ne peuvent avoir lieu que dans le sens goutte protoplasmique vers spermatogonie et non dans le sens inverse.

Mais la théorie la plus répandue admet que les spermatogonies se renouvellent elles-mêmes par mitose. Ainsi, ROLSHOVEN (1941, 1945, 1951), admet que chaque division spermatogoniale produit deux cellules-filles morphologiquement différentes : une spermatogonie et un spermatocyte de premier ordre. La répétition indéfinie de ces « divisions bivalentes » produit suffisamment de spermatocytes tout en maintenant le stock de spermatogonies. BROWN, BENDA, SCHOENFELD, VAN HOOF, DUESBERG, ROOSEN-RUNGE et GIESEL, CLERMONT et LEBLOND considèrent que les spermatogonies A, en se divisant, donnent des cellules qui restent en réserve pour le cycle suivant, tandis que les autres se différencient en spermatogonies B.

Mais, seuls CLERMONT et LEBLOND (1953), CLERMONT (1954), semblent avoir étudié d'une façon précise ce renouvellement chez le Rat et le Hamster en déterminant exactement le nombre et la place des divisions spermatogoniales dans le cycle de l'épithélium séminifère. Ces auteurs aboutissent à la théorie du « *renouvellement de la spermatogonie-souche* », un certain nombre de spermatogonies restant en réserve à chaque cycle.

Ainsi, même chez le Rat, animal très étudié, la question du renouvellement des spermatogonies n'a été résolue que récemment. Chez le Bélier, la seule étude sur cette question est celle de SCHOENFELD (1901) et, encore, les travaux de cet auteur portent-ils surtout sur le Taureau. Comme nous l'avons vu, SCHOENFELD admet l'existence d'une cellule-souche, la « cellule-indifférente », mais il ne précise ni le nombre de générations de spermatogonies précédant la formation d'une génération de spermatocytes, ni les phases du cycle de l'épithélium séminifère au cours desquelles ont lieu les divisions spermatogoniales. C'est pourquoi, nous avons cherché à préciser ces différents points sur nos Béliers Ile-de-France dans une étude d'ensemble des générations spermatogoniales chez le Bélier, dont nous avons déjà publié certains résultats (ORTAVANT, 1954 a).

B. — ÉTUDE DES SPERMATOGONIES CHEZ LE BÉLIER

(ORTAVANT, 1954 a)

1^o Étude morphologique des spermatogonies.

Comme CLERMONT et LEBLOND (1953) chez le Rat, nous avons pu définir trois catégories de spermatogonies chez le Bélier.

Les spermatogonies A, les moins nombreuses, correspondent aux cellules indifférentes de SCHOENFELD, qui les a fort bien décrites. Ce sont des cellules volumineuses, délimitées par une membrane, et plus ou moins

aplaties contre la paroi du tube. Leur noyau est ellipsoïde, à grand axe dirigé parallèlement à la paroi du tube. Au centre du noyau, se trouve un corpuscule de 1,5 à 2,5 μ de diamètre, se colorant au vert lumière. Il présente de grandes analogies avec le gros nucléole du noyau de Sertoli ou plasmosome (STEVENS, 1911) ; SCHOENFELD l'appelle chromoplaste. Ainsi, contrairement aux spermatogonies de type A du Rat, celles de Bélier possèdent un nucléole important. La chromatine est dispersée en petits grains autour de ce gros nucléole, et donne au noyau un aspect poussiéreux comparable à celui des spermatogonies poussiéreuses du Rat. Cependant, il n'est pas rare de rencontrer des granulations chromatiques plus volumineuses (fig. 17).

Lorsque la spermatogonie A se prépare à la division, le nucléole se charge de plus en plus de chromatine, les poussières s'agglutinent en plusieurs « caillots » qui se disposent ensuite sous la membrane nucléaire. Celle-ci disparaît après désagrégation du nucléole. Le plan de division est presque toujours perpendiculaire à la membrane du tube, sauf pour quelques rares exceptions, de sorte que les cellules-filles restent appliquées contre celle-ci (fig. 18).

Cet aspect des spermatogonies A se préparant à la division est très voisin de celui des spermatogonies intermédiaires. La principale différence réside dans le fait que la taille des noyaux des spermatogonies de type intermédiaire est plus faible (fig. 19).

Les spermatogonies de type B présentent un aspect bien différent : le noyau tend à devenir sphérique dans les dernières générations, les masses de chromatine sont nombreuses et, un certain nombre d'entre elles sont attachées à la membrane nucléaire, ce qui donne à celle-ci un aspect pointillé. De plus, autour de chacun des 2 ou 3 petits nucléoles un réseau de chromatine semble s'organiser.

Pendant la majeure partie de leur évolution les spermatogonies possèdent des noyaux à section elliptique ; ce n'est que tout à fait vers la fin que ceux-ci tendent à devenir sphériques. On peut facilement constater ce phénomène par l'examen du tableau VIII, où sont étudiées les variations du rapport $\frac{a}{b}$ des diamètres des sections transversales des noyaux des spermatogonies, a étant le diamètre parallèle à la paroi propre, et b le diamètre perpendiculaire à celle-ci.

Le rapport des deux diamètres perpendiculaires est égal en moyenne à 1,38. Il est intéressant de noter que, chez l'Homme, ROOSEN-RUNGE et BARLOW (1953) ont trouvé un rapport voisin sur les noyaux des grandes spermatogonies.

Les variations de ce chiffre moyen, d'un stade à un autre, ne sont pas significatives. De même, la répartition des fréquences de ce rapport dans les différents stades varie peu, bien qu'aux stades 3 et 4 on note une

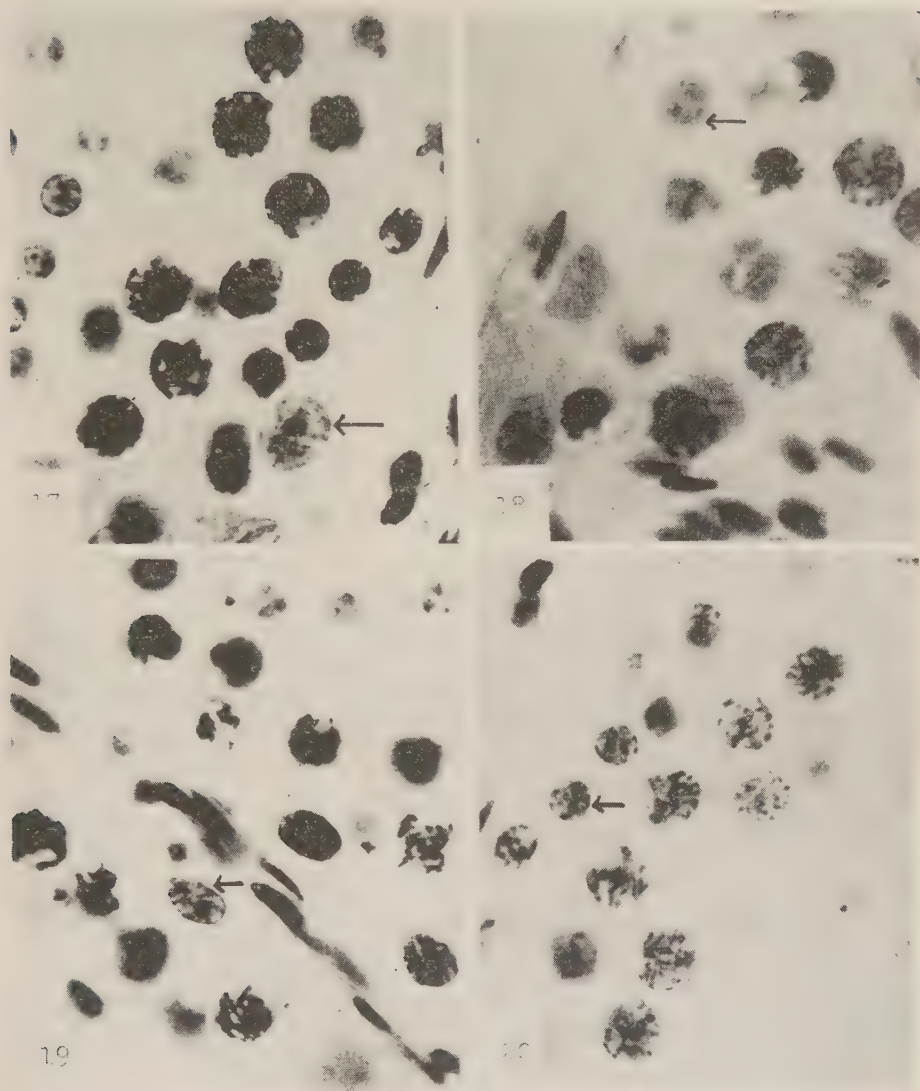


FIG. 17. — *Fragment de tube séminifère au stade 1.* La spermatogonie souche A, est située près de la membrane du tube séminifère, son noyau ovale présente un gros nucléole et un aspect poussiéreux ($\times 1150$).

FIG. 18. — *Fragment de tube séminifère au stade 3.* Apparition de la 2^e génération de spermatogonies A, dont les noyaux sont plus petits et plus chargés en chromatine ($\times 1150$).

FIG. 19. — *Fragment de tube séminifère au stade 6.* Spermatogonie B dont le noyau ovale possède de gros « caillots » chromatiques périphériques ($\times 1150$).

FIG. 20. — *Fragment de tube séminifère au stade 1.* Apparition des jeunes spermatocytes dont les noyaux sont beaucoup plus petits que ceux des vieux spermatocytes voisins ($\times 1150$).

TABLEAU VIII

Variations du rapport $\frac{a}{b}$ des deux diamètres perpendiculaires des sections transversales des noyaux des spermatogonies.

$\frac{a}{b}$	Fréquence								
	Stade 1 A	Stade 2 A	Stade 3 A	Stade 4 A + In	Stade 5 In	Stade 6 B	Stade 7 B	Stade 8 B	Stade 1 spc. I
< 0,8								7	1
0,8 — 0,99	4		2	6	6	6	3	21	8
1,0 — 1,19	22	15	15	22	20	55	26	65	47
1,20 — 1,39	29	43	33	35	34	69	36	37	6
1,40 — 1,59	24	15	28	43	23	19	26	29	4
1,60 — 1,79	9	8	12	24	17	14	12	8	1
1,80 — 1,99	3	3	4	14	7	2	1	5	
≥ 2,0	2	5	13	13	2	4	1	1	
Moyenne $\frac{a}{b}$	1,36	1,39	1,47	1,50	1,39	1,30	1,35	1,24	1,12

légère augmentation de l'allongement des noyaux. On peut donc comparer la taille des noyaux des différentes générations spermatogoniales en étudiant les variations du diamètre moyen $\frac{a+b}{2}$, estimation plus précise que celle du volume nucléaire, car la 3^e dimension du noyau étant inconnue, l'erreur commise sur le volume nucléaire est importante (RATHER, 1951 ; MICKLEWRIGHT et autres, 1953).

2° Évolution des spermatogonies au cours du cycle de l'épithélium séminifère.

a) **Définition des populations spermatogoniales.** — On rencontre exclusivement des spermatogonies A au stade 1. La population de spermatogonies, à ce stade, est homogène comme on peut le constater par l'examen du tableau X et de la figure 21, et le démontrer par le calcul statistique : $\chi^2 = 5,48$; $\nu = 8$; $P = 0,70$.

Nous sommes donc en présence d'une seule génération de spermatogonies et c'est précisément la première génération : la génération de base. En effet, le calcul du nombre moyen de spermatogonies dans une section transversale de tube séminifère montre (tableau IX) que le nombre de base de spermatogonies A est 2,3 et qu'on le rencontre aux stades 5, 6, 7, 8 et 1.

Une première division se produit au stade 2 ; on remarque en effet, à ce stade, un certain nombre de figures de divisions spermatogoniales qui se traduisent sur la population de noyaux spermatogoniaux par une

TABLEAU IX

Variations du nombre moyen corrigé de spermatogonies par section transversale de tube séminifère de 10 μ d'épaisseur (ORTAVANT, 1954 a).

Stade	Nombre de spermatogonies par coupe de tube séminifère		Nombre de tubes
	Spermatogonies A	Spermatogonies B	
1.....	2,3 $\pm$ 0,2		68
2.....	3,9 $\pm$ 0,3		22
3.....	5,4 $\pm$ 0,3		67
4.....	6,6 $\pm$ 0,4		31
5.....	2,3 $\pm$ 0,2	5,2 $\pm$ 0,4	41
6.....	2,2 $\pm$ 0,2	7,8 $\pm$ 0,5	43
7.....	2,4 $\pm$ 0,2	10,9 $\pm$ 0,4	33
8.....	2,1 $\pm$ 0,2	20,5 $\pm$ 0,8	47
1.....	2,3 $\pm$ 0,2	37,1 $\pm$ 1,4 (Spc)	68

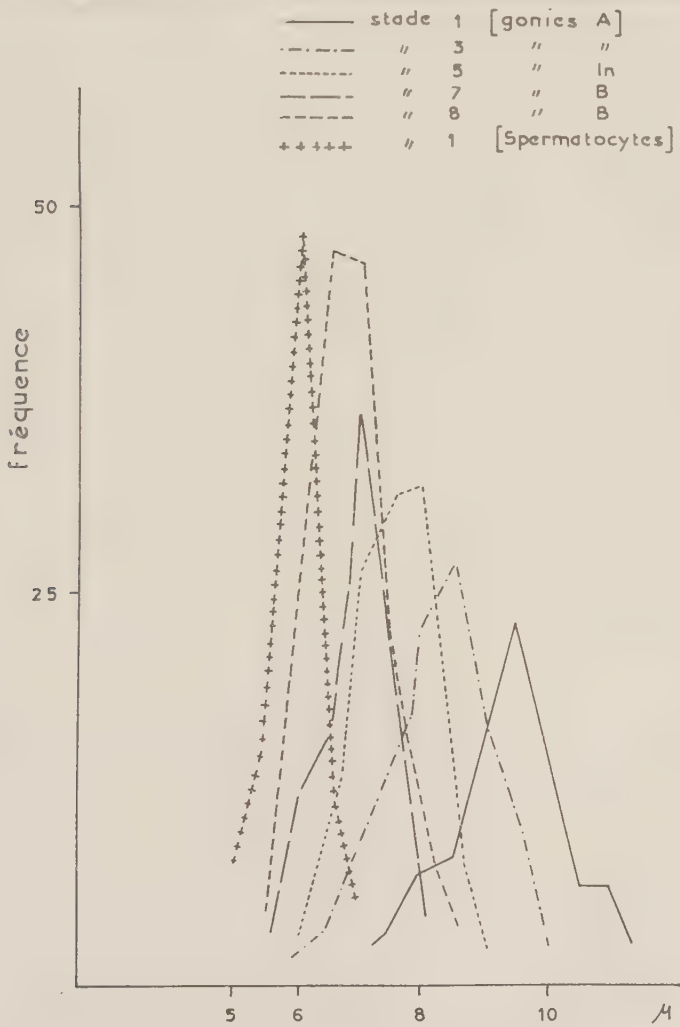


FIG. 21. — Variations du diamètre nucléaire des spermatogonies.

TABLEAU X

Fréquence du diamètre moyen des sections transversales des noyaux de spermatogonies aux différents stades du cycle de l'épithélium séminifère (ORTAVANT, 1954 a).

Diamètre nucléaire moyen (μ)	Fréquence des noyaux au stade								
	1 (A)	2 (A)	3 (A)	4 (A + In)	5 (In)	6 (B)	7 (B)	8 (B)	9 (Spc)
>11,3.....	1								
11,3-10,9.....	2								
10,8-10,5.....	6								
10,4-10,0.....	6	3	1						
9,9-9,6.....	16	7	2			1			
9,5-9,1.....	23	11	11	6		2			
9,0-8,7.....	16	13	17	22	3	11	1	2	
8,6-8,2.....	8	15	27	16	11	24	2	5	
8,1-7,7.....	7	8	23	37	32	26	4	11	
7,6-7,3.....	3	11	14	29	31	34	23	21	
7,2-6,8.....	2	4	10	37	27	17	37	46	5
6,7-6,3.....			3	14	10	24	15	47	14
6,2-5,8.....			2	13	3	8	12	19	48
5,7-5,4.....			1	3		2	1	5	18
5,3-4,9.....									7

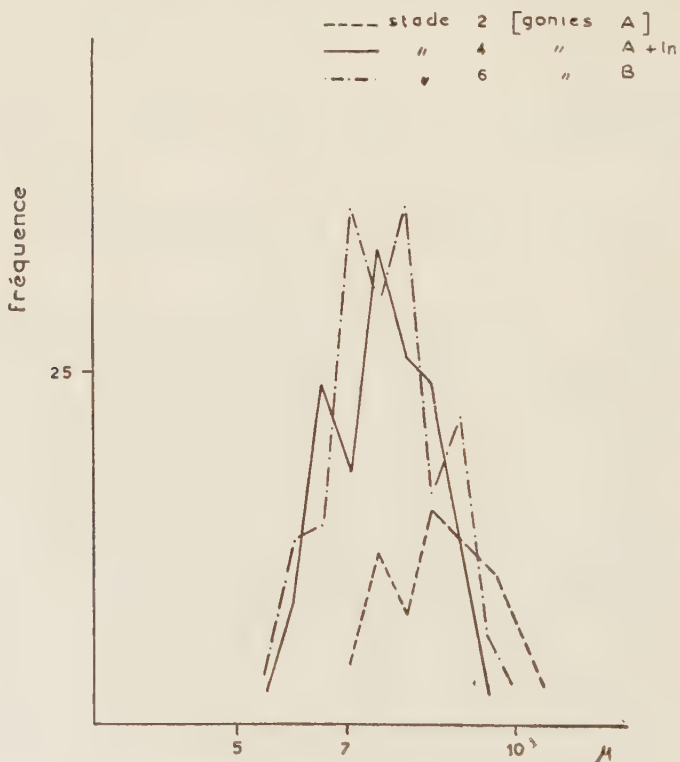


FIG. 22. — Variations du diamètre nucléaire des spermatogonies.

augmentation de la fréquence des noyaux à petit diamètre (tableau X, fig. 22).

Ces noyaux de plus petite taille ne peuvent provenir que de la division des spermatogonies A du stade 1. Le nombre moyen des spermatogonies A s'est d'ailleurs légèrement accru sans atteindre le double du nombre de base du stade 1 (tableau IX).

Cette division spermatogoniale donne naissance à une deuxième génération de spermatogonies A qui se caractérise au stade 3 par l'obtention d'une nouvelle population nucléaire homogène (tableau X) : $\gamma^2 = 5,50$; $v = 8$; $P = 0,70$). Le nombre moyen de spermatogonies à ce stade est approximativement le double du nombre de base.

Au stade 4, on obtient à nouveau une population nucléaire hétérogène (tableau X : $\gamma^2 = 10,6$; $v = 6$; $P = 0,01$), et des figures de divisions spermatogoniales sont visibles dans les tubes séminifères à ce stade. Ces divisions affectent la deuxième génération de spermatogonies A, caractérisée au stade 3 (fig. 22 et 24).

Or, au stade 5, on remarque la présence de deux catégories distinctes de spermatogonies : des spermatogonies A et des spermatogonies intermédiaires évoluant vers le type B. Ces deux populations de spermatogonies sont l'une et l'autre homogènes : elles représentent donc le produit des divisions que nous avons observées au stade 4. Mais, le nombre total de spermatogonies (tableau IX) à ce stade, au lieu d'être le double de celui compté au stade 3, n'est égal qu'aux $3/2$ de celui-ci : $1/2$ représente les spermatogonies A et $2/2$ les spermatogonies intermédiaires. Pour expliquer ce fait, on est obligé d'admettre que la $1/2$ seulement des spermatogonies A du stade 3 se sont divisées pour donner naissance aux spermatogonies intermédiaires, alors que l'autre moitié est restée au repos et constitue le stock de spermatogonies A que l'on trouve au stade 5. Le diamètre nucléaire moyen de ces dernières n'est d'ailleurs pas significativement différent de celui des spermatogonies A du stade 3, alors que celui des spermatogonies intermédiaires est nettement inférieur (tableau XI).

Au stade 6, les spermatogonies B provenant de la transformation des spermatogonies intermédiaires, se divisent à leur tour. Cette division est mise en évidence par les mêmes techniques que les précédentes. On obtient ainsi la quatrième génération de spermatogonies rencontrées au stade 7.

Les cellules de cette génération se divisent à la fin du stade 7 et au début du stade 8 pour donner naissance à la cinquième et dernière génération de spermatogonies trouvées à la périphérie des sections transversales des tubes séminifères au stade 8. Enfin, au début du stade 1, la dernière division spermatogoniale permet d'obtenir une nouvelle génération de spermatocytes primaires (tableaux IX et X).

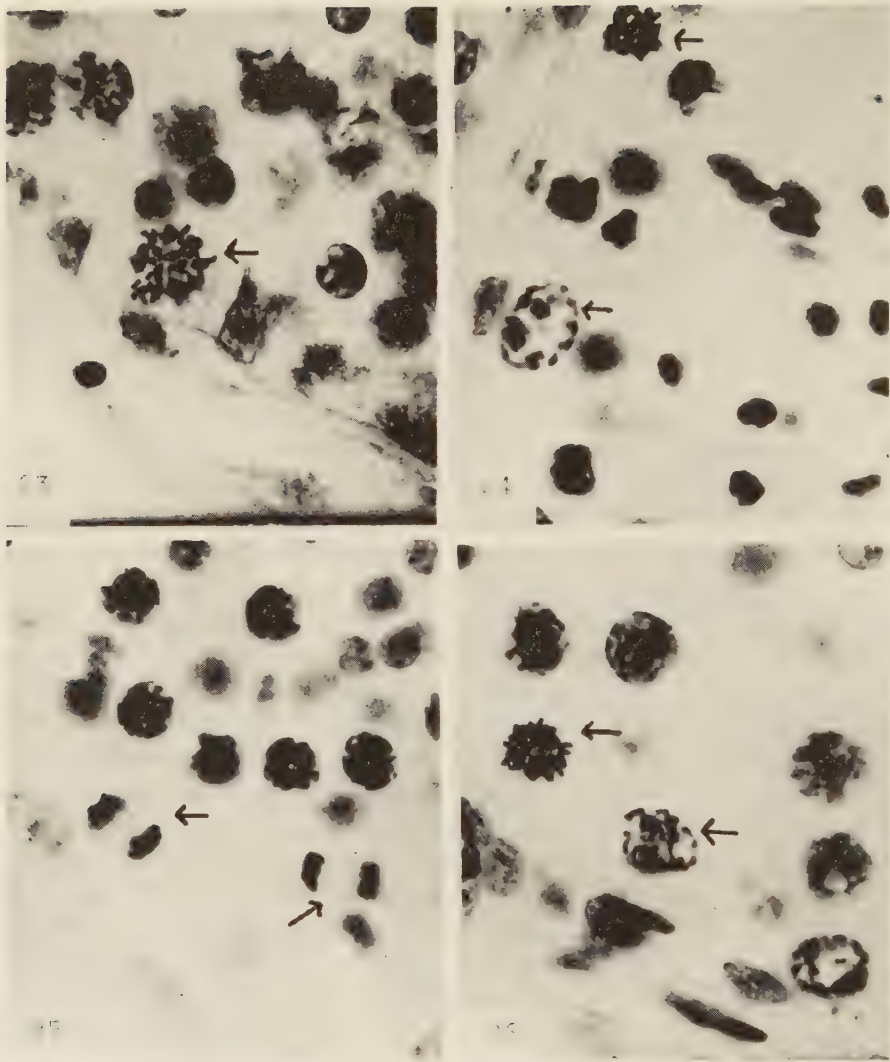


FIG. 23. — Métaphase de la 1^{re} division spermatogoniale (fin du stade 1) ($\times 1150$).

FIG. 24. — Prophase et métaphase de la 2^e division spermatogoniale (stade 4) ($\times 1150$).

FIG. 25. — Anaphases de la 4^e division spermatogoniale (début du stade 8) ($\times 1150$).

FIG. 26. — Prophases et métaphases de la dernière division spermatogoniale (début du stade 1) ($\times 1150$).

Ces dernières divisions sont caractérisées par la synchronisation des figures mitotiques, presque toutes les cellules se divisant en même temps. Il en résulte la formation de « groupes homogènes de cellules isogéniques » (CLERMONT, 1954) : tous les spermatocytes de premier ordre d'une même génération se trouvent au même stade. Cette synchronisation n'existe pas pour les trois premières divisions, l'homogénéité des noyaux d'une même génération n'est alors réalisée que lorsque ceux-ci ont terminé leur croissance (stades 1, 3, 5).

TABLEAU XI

Variations du diamètre nucléaire moyen (μ) des spermatogonies au cours du cycle spermatogénétique.

Stade	1	2	3	4	5	6	7	8	1
Spermatogonies A.....	9,2 ± 0,10	8,5 ± 0,12	8,1 ± 0,10		8,4 ± 0,12	8,4 ± 0,10	8,4 ± 0,10	8,8 ± 0,12	9,2 ± 0,10
A + In.....				7,9 ± 0,13					
In ou B.....					7,5 ± 0,07	7,5 ± 0,07	6,9 ± 0,06	6,8 ± 0,05	
Spermatocytes.....									6,0 ± 0,05

b) **Evolution de la taille nucléaire des spermatogonies au cours de la spermatogenèse.** — L'étude de l'évolution des tailles nucléaires des spermatogonies fournit quelques précisions supplémentaires. Du stade 3 au stade 7 on constate que la taille des noyaux des spermatogonies A ne varie pas : nous sommes donc en présence de cellules à l'état de repos, de « cellules dormantes » (CLERMONT et LEBLOND, 1953), puis, aux stades 8 et 1, la taille de ces noyaux augmente brusquement (tableau XI), préparation à la caryocinèse. Par suite des divisions successives, la taille moyenne des noyaux des spermatogonies va constamment en diminuant jusqu'au jeune spermatocyte au stade préleptotène, ce qui indique clairement le sens de l'évolution de la cellule-mère aux cellules-filles. Il est à remarquer qu'après chaque division le noyau des cellules-filles subit une légère croissance, définie par un coefficient de croissance, qui lui permet d'acquérir un volume supérieur à la moitié du volume nucléaire de la cellule-mère ; mais cette croissance est insuffisante pour permettre au noyau d'atteindre le volume initial (tableau XII).

Le coefficient de croissance des noyaux-fils est en moyenne égal à 1,54. Ce chiffre est peu différent, bien que légèrement supérieur au coefficient théorique indiqué par ROSEN-RUNGE et BARLOW (1953) pour la cellule spermatogoniale humaine : $\sqrt{2}$, c'est-à-dire 1,41. Il est également très voisin de celui observé par SCHREIBER (1949) sur les spermatogonies de Serpent.

Cette croissance nucléaire des spermatogonies après chaque division est très inférieure à celle subie par les spermatocytes primaires, puisque le volume final des noyaux de ces cellules est égal à plus de trois fois celui des noyaux des jeunes spermatocytes. Par contre, on ne constate évidemment aucune croissance des noyaux après chacune des deux divisions de maturation des spermatocytes : le volume nucléaire des cellules-filles est très voisin de la moitié du volume nucléaire de la cellule-mère.

TABLEAU XII

Volume nucléaire moyen des différentes générations de spermatogonies (spg) des spermatocytes (spc) et des spermatides (spt).

Génération cellulaire	1 ^{re} Spg	2 ^e Spg	3 ^e Spg	4 ^e Spg	5 ^e Spg	Jeunes Spc I	Spc I fin de la croissance	Spc II	Spt
Volume nucléaire moyen μ^3	443	310	238	195	175	122	423	198	97
Coefficient de croissance		1,40	1,53	1,63	1,78	1,38	3,50	0,95	0,99
Nombre de données..	91	111	238	98	156	92	25	24	25

C. — DISCUSSION

Les résultats que nous venons d'exposer permettent de nous faire une opinion sur le mode de renouvellement des spermatogonies et l'origine du cycle spermatogénétique chez le Bélier.

Ils ne confirment pas la théorie de STROGANOVA (1952) et de ESDANIAN (1953) postulant que les spermatogonies prennent naissance à partir des débris cellulaires, résidus de la spermiogénèse. DALED (1951), puis DAOUST et CLERMONT (1955) ont suivi l'évolution des « corps résiduels » chargés d'acide ribonucléique qui sont éliminés en fin de spermiogénèse. La fraction de ceux-ci, non entraînée dans la lumière du tube séminifère, s'enfonce jusqu'au niveau des noyaux de Sertoli. Là, les corps résiduels se vacuolisent et semblent être résorbés au contact des noyaux de Sertoli. Mais à aucun moment DALED ne parle de l'apparition de l'acide désoxyribonucléique au sein de ces gouttes d'acide ribonucléique pour donner naissance à des spermatogonies. Nous avons bien observé, comme STROGANOVA et comme ESDANIAN des gouttes protoplasmiques où l'acide désoxyribonucléique apparaît diffus, ou en gouttelettes denses, surtout aux stades 3 et 4, mais cela coïncidait toujours avec des figures de dégénérescence de spermatogonies ou de spermatocytes de premier ordre au stade zygotène. D'ailleurs, ni STROGANOVA, ni ESDANIAN n'ont observé la phase finale de transformation de ces gouttes avec noyau central en

spermatogonies. De plus, ils ne donnent aucun chiffre pour montrer que le nombre de cellules néoformées correspond au nombre des spermatogonies trouvées aux différents stades de la spermatogenèse.

La théorie des « mitoses bivalentes » de ROLSHOVEN (1941-1945-1951) est viciée, ainsi que l'ont fait remarquer CLERMONT et LEBLOND (1953), par la classification comme spermatogonies, de cellules qui sont, en réalité, de jeunes spermatocytes se trouvant encore le long de la membrane. La seule division produisant deux cellules-filles différentes est la première division spermatogoniale donnant naissance à une spermatogonie A « dormante » et à une autre spermatogonie A qui se divise peu après. Encore est-il impossible, du moins morphologiquement, de distinguer ces deux cellules.

Nos résultats permettent au contraire de généraliser au Bélier la théorie du « renouvellement de la cellule-souche » de CLERMONT et LEBLOND (1953). Il y a apparition périodique d'une cellule-souche qui se sépare dès le stade 4 des autres spermatogonies produisant des spermatocytes après 4 divisions mitotiques. Cette spermatogonie ne subit pas de mitose jusqu'au stade 1 suivant où elle fonctionne comme cellule-souche pour la série des divisions successives qui permettront d'obtenir une nouvelle génération de spermatocytes de premier ordre (fig. 34).

On constate aisément que, chez le Bélier, la spermatogonie souche se détache des autres spermatogonies dès la première mitose et non après la deuxième, comme chez le Rat ou le Hamster (CLERMONT et LEBLOND, 1953 ; CLERMONT, 1954). Ceci entraîne la production de 16 spermatocytes de premier ordre au lieu de 24 : l'efficacité de la spermatogenèse est donc plus faible chez le Bélier que chez le Rat ou le Hamster. Il existe cependant des espèces où l'efficacité est encore plus réduite puisque, chez le Singe, une cellule souche produit seulement 4 spermatocytes (CLERMONT et LEBLOND, 1953).

Mais, aussi bien chez le Bélier que chez le Rat, l'origine du cycle spermatogénétique est beaucoup plus éloignée qu'on ne l'admettait jusqu'à présent (ROOSEN-RUNGE et GIESEL, 1950). Il faut reconnaître cependant que SCHOENFELD (1901) avait approché de très près cette origine. Il admettait en effet que la cellule-souche prenait naissance au stade 5 alors que nous trouvons qu'elle est formée dès le stade 2. En outre les spermatozoïdes issus de cette cellule-souche ne sont éliminés dans la lumière des tubes séminifères qu'après le déroulement de 5 cycles successifs de l'épithélium séminifère.

III. — LES AUTRES ÉLÉMENTS CELLULAIRES DU CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE

Nous avons déterminé l'origine du cycle spermatogénétique et l'évolution des différentes générations de spermatogonies au cours de ce cycle. Il est important de suivre également les transformations des autres cellules germinales jusqu'à la fin du cycle spermatogénétique, c'est-à-dire jusqu'à l'élimination des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères. Les modifications subies par ces cellules ne sont pas indépendantes les unes des autres, mais elles sont étroitement liées et servent à définir les différents stades du cycle de l'épithélium séminifère.

A. — LES SPERMATOCYTES

1° Les spermatocytes de 1^{er} ordre.

Les spermatocytes de 1^{er} ordre, produits de la division de la 2^e génération de spermatogonies de type B, représentent les cellules germinales qui subissent la division méiotique.

Immédiatement après leur naissance, les noyaux des spermatocytes présentent une grande ressemblance avec les noyaux des cellules mères, aussi ont-ils été souvent confondus avec les spermatogonies du type B (VON EBNER, 1888 ; LENHOSSEK, 1898 ; ALLEN, 1918). ROOSEN-RUNGE et GIESEL (1950) les ont qualifiés de « prespermatocytes », mais comme le fait remarquer CLERMONT (1953), il est préférable de ne donner qu'un seul nom à des cellules appartenant à une même génération.

L'évolution des spermatocytes a été bien décrite chez le Rat par LENHOSSEK (1898), REGAUD (1901-1909), DUESBERG (1908), VAN HOOFF (1912), ALLEN (1918), et par tous ceux qui se sont intéressés à l'aspect cytogénétique, domaine extrêmement vaste que nous n'aborderons pas ici. Les spermatocytes de Taureau déjà décrits par SCHOENFELD (1901) ont été étudiés à nouveau par KNUDSEN (1954). Par contre les spermatocytes de Bélier ont été peu observés : seul SCHOENFELD s'y réfère de temps à autre dans son travail sur le Taureau.

Dans notre étude sur la spermatogenèse du Bélier, nous avons constaté, qu'à leur naissance (stade 1 du cycle de l'épithélium séminifère), les noyaux des spermatocytes primaires présentent des scutelles de chromatine réparties sous la membrane nucléaire ce qui, en dehors de leur taille plus petite, les rend très semblables aux spermatogonies B. C'est ce stade nucléaire que nous nommerons stade préleptotène. Cependant, dès la fin du stade 1 du cycle de l'épithélium séminifère, de fins filaments de chromatine apparaissent dans les noyaux des spermatocytes primaires et, au

cours des stades 2 et 3 les chromosomes se rassemblent dans une partie du noyau en un véritable « bouquet » donnant l'impression que le reste du noyau est vide. Nous trouvons donc des noyaux au stade leptotène au cours de cette fraction du cycle de l'épithélium séminifère. De la fin du stade 3 jusqu'au stade 5 les chromosomes s'associent 2 à 2, caractérisant ainsi le stade zygotène. A ce moment, les chromosomes se fissent et semblent, de ce fait, plus épais définissant des noyaux au stade pachytène qui persistent jusqu'au début du cycle de l'épithélium séminifère suivant, puis font place à des noyaux au stade diplotène. La prophase méiotique se termine alors à la fin du stade 3, puisque, par définition, la métaphase méiotique sert de critère pour déterminer le début du stade 4.

2° Les spermatocytes du 2^e ordre.

Les spermatocytes de 2^e ordre, qui résultent de la division des spermatocytes de 1^{er} ordre, furent découverts par VON EBNER (1888) d'où le nom de « cellules de VON EBNER » qui leur fut attribué par un certain nombre d'histologistes. Chez le Bélier, le noyau des spermatocytes de 2^e ordre est rond ; son volume (200 μ^3) est exactement la moitié de celui des spermatocytes de 1^{er} ordre, et, après fixation, il montre un certain nombre de « caillots » hétérochromatiques (5 à 6), réunis par un réseau assez lâche de filaments chromatiques. Très rapidement ces noyaux vont se diviser et donner naissance aux spermatides.

L'évolution des spermatocytes de Bélier est ainsi très semblable à celle des spermatocytes de Rat. Alors que la durée de vie des spermatocytes de 2^e ordre représente 3 à 4 p. 100 du cycle de l'épithélium séminifère, soit environ 0,6 p. 100 du cycle spermatogénétique, celle des spermatocytes de 1^{er} ordre est extrêmement longue et demande environ 1,5 cycles de l'épithélium séminifère, soit plus de 30 p. 100 du cycle spermatogénétique. Ainsi, dans tous les stades du cycle de l'épithélium séminifère antérieurs au stade 4, on rencontrera deux générations de spermatocytes de 1^{er} ordre, alors que les stades postérieurs seront caractérisés par la présence d'une seule génération de spermatocytes de 1^{er} ordre, puisque l'autre génération, la plus âgée, a subi les divisions de maturation pour donner naissance aux spermatides.

B. — LES SPERMATIDES

1° Historique.

Les spermatides sont donc les cellules résultant de la 2^e division de maturation des spermatocytes. Leurs structures nucléaires et cytoplasmiques subissent un ensemble de transformations appelées *spermiogenèse*.

L'évolution des spermatides a retenu beaucoup plus l'attention des chercheurs que ne l'avait fait celle des spermatogonies. Des revues sur cette question ont été faites récemment par GRESSON (1951) et par CLERMONT (1953) d'une façon extrêmement complète. C'est la raison pour laquelle nous limiterons notre étude à certains aspects de la spermiogénèse.

a) **Le noyau des spermatides.** — L'étude de l'évolution du noyau des spermatides présente un grand intérêt, non seulement pour fixer l'origine des anomalies dans les têtes des spermatozoïdes éjaculés, mais aussi, comme nous le verrons plus loin, pour déterminer certaines constantes d'activité spermatogénétique du testicule. Cependant cette étude n'a été effectuée d'une façon systématique que par quelques auteurs. Ainsi DUESBERG (1908), LEBLOND et CLERMONT (1952), et surtout DAOUST et CLERMONT (1955) ont bien analysé l'évolution du noyau des spermatides de Rat. Ces derniers auteurs ont trouvé en particulier une augmentation de coloration de l'acide désoxyribonucléique lorsque les noyaux des spermatides s'allongent. KHAN VAN KIEN et SENTAIN (1947) avaient aussi constaté un changement de coloration des noyaux de spermatides de Rat à l'aide de fluorones. Ainsi, chez le Rat, outre le changement morphologique subi par le noyau des spermatides il existe également une modification de la constitution de celui-ci.

L'examen du noyau des spermatides de Bélier a été peu abordé : on trouve quelques renseignements dans le travail de GRESSON et ZLOTNIK (1945), encore sont-ils fragmentaires.

b) **Les constituants cytoplasmiques des spermatides.** — C'est surtout l'évolution des constituants cytoplasmiques qui a provoqué les recherches les plus importantes ; de très nombreux travaux ont été publiés sur cette question.

α) *Définition des termes utilisés* : Les termes définissant un certain nombre de constituants cytoplasmiques des spermatides ont été utilisés différemment par divers auteurs. Il en est résulté une grande confusion. Il est donc nécessaire de préciser, sans ambiguïté, les termes qui seront utilisés dans cet exposé ; LEBLOND et CLERMONT (1952), CLERMONT (1953) ont déjà établi un dictionnaire sur la spermiogénèse. Afin de ne pas ajouter à la confusion déjà existante nous conservons en grande partie les définitions qu'ils ont données.

L'appareil de Golgi des jeunes spermatides est un complexe cytoplasmique situé près du noyau et constitué par des structures périphériques « les dictyosomes » groupés autour du centrosome réalisant ainsi un corps connu sous le nom d'idiosome (GRASSÉ, CARASSO et FAVARD, 1955 a).

L'idiosome se présente sous forme d'une sphère renfermant les granules proacrosomiques et acrosomiques. Il se colore à l'acide periodique-Schiff.

Les dictyosomes se composent de 2 substances caractéristiques : l'une chromophile, l'autre chromophobe après action de l'acide osmique.

Le granule acrosomique est un corpuscule unique contenu dans l'idiosome et déposé sur le noyau de la jeune spermatide. Il résulte de la fusion des *granules proacrosomiques* des très jeunes spermatides et donne l'*acrosome* des spermatozoïdes mûrs.

Le capuchon céphalique est constitué par la mince membrane prenant naissance à partir du granule acrosomique et s'étendant sur la partie antérieure de la tête du spermatozoïde. L'ensemble de l'acrosome et du capuchon céphalique constitue le *système acrosomique* du spermatozoïde.

Le reste de Golgi est constitué par le surplus de l'appareil de Golgi après dépôt du granule acrosomique sur le noyau de la spermatide.

Les centrioles sont de petits granules dans le cytoplasme des jeunes spermatides situés d'abord dans l'appareil de Golgi, puis, après migration au pôle opposé au granule acrosomique, donnant naissance au flagelle.

L'ensemble des centrioles et de leurs dérivés constitue l'*appareil centriolaire*.

Le tube caudal ou manchette est une membrane cytoplasmique formant une gouttière fermée autour de la partie postérieure du noyau et du flagelle.

Enfin, la *gouttelette cytoplasmique* de la pièce intermédiaire est un reste cytoplasmique attaché dans la région du cou des spermatozoïdes testiculaires.

β) *Bref historique de nos connaissances sur l'évolution des constituants cytoplasmiques des spermatides* : MERKEL (1874) fut le premier à décrire l'idiosome de la spermatide du Rat. Il pensa que cette structure donnait naissance au granule acrosomique mais que le capuchon céphalique provenait d'une transformation de la membrane nucléaire ; hypothèse émise également par RENSON (1882). C'est à BROWN (1883) que revint le mérite de montrer que le capuchon céphalique provenait de l'idiosome dans lequel BENDA (1891) crut reconnaître l'existence d'une vacuole qu'il nomma « archoplasm ». Le terme d'acrosome apparaît pour la première fois dans le travail de LENHOSSEK (1898) sur le Rat et le Cobaye, et celui d'idiozome, transformé plus tard en idiosome (REGAUD, 1901), dans l'analyse de la spermiogenèse du Cobaye effectuée par MEVES (1899). Cet auteur décrivit en outre la formation du tube caudal et celle de la pièce intermédiaire. Un travail comparable à celui de MEVES fut réalisé par DUESBERG (1908) chez le Rat, travail dans lequel se trouve bien analysée l'évolution des centrioles. PAPANICOLAOU et STOCKARD (1918) montrent l'existence de deux zones dans l'acrosome du spermatozoïde de Cobaye et, à la même époque, GATENBY et WOODGER (1920) pensent qu'une partie de l'idiosome contribue à la formation de la gouttelette cytoplasmique. Dans une

étude comparée de la spermiogenèse chez la Souris, le Rat, le Hamster, le Verrat, le Bêlier, le Chien, le Chat, le Lapin et le Taureau, GRESSON (1942), GRESSON et ZLOTNIK (1945, 1948), ont retrouvé l'existence des deux zones dans l'acrosome du spermatozoïde de Lapin et l'intervention du matériel de Golgi dans la constitution de la gouttelette cytoplasmique de la pièce intermédiaire.

Jusqu'alors la spermiogenèse avait été étudiée à l'aide des techniques histologiques classiques : coloration à l'hématoxyline, imprégnation argentique, etc. A partir de 1946, trois techniques nouvelles vont permettre la réalisation de progrès rapides : coloration à l'acide periodique-Schiff, examen au microscope électronique, examen de matériel vivant au microscope à contraste de phase.

Le microscope électronique a permis à WATSON (1952) de mettre en évidence, dans l'idiosome des Mammifères, une structure lamellaire entourant une partie interne contenant de petits granules et à GRASSÉ, CARASSO et FAVARD (1955a) de découvrir, en outre, de nombreuses vésicules dans les dictyosomes des spermatides de Grenouille. CLERMONT, LEBLOND et EINBERG (1955) ont constaté que la zone centrale du granule acrosomique est constituée par un corps sphérique dense, tandis que la zone externe, moins dense, est en continuité avec le capuchon céphalique. Ces derniers auteurs ont pu aussi prouver que la membrane de l'appareil acrosomique était distincte de la membrane nucléaire. CHALLICE (1953) a suivi, chez la Souris et le Hamster, la formation de l'appareil locomoteur et montré la complexité de celui-ci par l'apparition successive d'un certain nombre de fibrilles. L'observation de WISLOCKI (1949) constatant l'existence de matériel colorable au réactif de Schiff après oxydation à l'acide periodique dans l'acrosome des spermatides de Cerf, a servi de base aux études de LEBLOND (1950), LEBLOND et CLERMONT (1952 a), CLERMONT (1953), CLERMONT (1954), CLERMONT et LEBLOND (1955) sur la spermiogenèse du Rat, du Hamster, du Cobaye, du Bêlier, du Singe et de l'Homme. Ces auteurs, en suivant le développement du système acrosomique chez ces différentes espèces, ont montré que le système acrosomique des spermatozoïdes de la plupart des espèces étudiées est composé de l'acrosome et de la coiffe céphalique ; chez les Primates, cependant, seule, la coiffe céphalique subsiste dans le spermatozoïde mûr. L'évolution du système acrosomique leur a permis en outre de définir avec précision les différents stades du cycle de l'épithélium séminifère. La coloration du système acrosomique à l'aide de la réaction acide periodique-Schiff dénote l'existence de glycoprotéides. CLERMONT, GLEGG et LEBLOND (1955) ont effectivement isolé par chromatographie d'hydrolysats d'acrosomes de spermatozoïdes de Cobaye, du galactose, du mannose, du fucose et de l'hexosamine.

Enfin, l'examen de matériel frais au microscope à contraste de phase

a permis à PRICE, JONES et SMITH (1946), OETTLIE (1948), GRESSON (1950), AUSTIN et SAPSFORD (1951) de reconnaître la plupart des structures qui avaient été décrites auparavant sur du matériel fixé. On ne peut donc prétendre qu'il s'agit d'artefacts.

En résumé, ce bref aperçu historique nous a montré que la spermiogenèse des Mammifères est un phénomène extrêmement complexe. Actuellement on peut affirmer que la formation du système acrosomique est à peu près connue et peut être ainsi résumée : prenant naissance dans l'idiosome, 2 ou 3 granules proacrosomiques se fusionnent pour former un granule acrosomique qui, déposé sur le noyau, fournit à la fois l'acrosome et la coiffe céphalique. Des deux centrioles qui ont migré à la partie postérieure du noyau, l'un va rester près du noyau tandis que l'autre se transformant en un anneau glisse le long du flagelle. Ce flagelle, qui prend naissance à partir des centrioles, est constitué par de nombreuses fibrilles s'épanouissant en une sorte de brosse à l'extrémité. Les mitochondries de la spermatide se rassemblent autour du filament axial en une spirale double et contribuent à la formation de la pièce intermédiaire. Enfin, une partie du matériel de Golgi, après migration au voisinage du pôle postérieur du noyau se trouve insérée dans le reste cytoplasmique après écoulement du cytoplasme des spermatides. Cet ensemble constitue la gouttelette cytoplasmique de la pièce intermédiaire lors de la maturation épидидymaire des spermatozoïdes.

Chez le Bélier, les principaux travaux sur la spermiogenèse sont ceux de GRESSON et ZIOTNIK (1945), CLERMONT (1953), ORTAVANT (1954), CLERMONT et LEBLOND (1955) dans lesquels l'évolution de l'appareil acrosomique a surtout été envisagée. Nous nous attacherons donc dans cette étude à préciser l'évolution des différents constituants cytoplasmiques de la spermatide, *en situant chaque fois la transformation dans un stade du cycle de l'épithélium séminifère.*

2° La spermiogenèse chez le Bélier. Résultats personnels.

a) **Évolution du noyau des spermatides au cours de la spermiogénèse** (fig. 27). — Le noyau fixé de la jeune spermatide renferme 5 ou 6 gros « caillots » d'hétérochromatine reliés par un réseau de fins filaments chromatiques et sur le trajet desquels on peut voir de petits granules hétérochromatiques. Ce noyau ressemble ainsi beaucoup à celui du spermatocyte de 2^e ordre. On pourrait ainsi facilement les confondre s'il n'existait une différence de taille importante. Le volume du noyau des spermatocytes de deuxième ordre est en effet le double du volume du noyau des spermatides.

	Diamètre moyen (μ)	Volume moyen (μ^3)
Spermatocytes de 2 ^e ordre.....	7,3 $\pm$ 0,04	198 $\pm$ 4
Spermatides.....	5,7 $\pm$ 0,02	97 $\pm$ 2

Au stade 6 du cycle de l'épithélium séminifère le réseau et les fins corpuscules chromatiques se résolvent en une fine poussière homogène dans laquelle reposent 3 à 4 gros « caillots » hétérochromatiques. Cet aspect se conserve au cours du stade 7.

Au stade 8 et au stade 1 suivant, les fins granules chromatiques semblent se dissoudre et disparaître dans un suc nucléaire homogène cependant que les « caillots » hétérochromatiques s'effritent.



FIG. 27. — Evolution du noyau des spermatides du Bélier (FEULGEN). — *a* : spermatocytes II. — *b* : spermatide (stade 5) : noyau réticulé. — *c* : spermatide (stade 6) : noyau poussiéreux. — *d-e* : spermatide (stade 8-1). — *f* : spermatide début du stade 2. — *g-g1* : spermatide (stade 3). — *h-h1* : spermatide rencontrée parfois au stade 4. — *i* : spermatozoïde.

Au stade 2, la chromatine devient progressivement homogène pendant que le noyau s'allonge, s'aplatit dorso-ventralement et que l'intensité de coloration nucléaire augmente. Le noyau prend ainsi progressivement la forme d'une spatule dont la partie postérieure serait légèrement rétractée. Mais, dès le stade 5, la forme spatulée devient régulière et ne subit presque plus de modifications jusqu'à l'expulsion des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère. Au cours de cet aplatissement et de cet allongement du noyau, les molécules d'acides nucléiques semblent s'orienter parallèlement à l'axe longitudinal de celui-ci, provoquant les phénomènes de biréfringence constatés par RANDALL et FRIEDLANDER (1950) et de diffraction aux rayons X (WILKINS et RANDALL, 1953). La tête des spermatozoïdes de Bélier deviendrait ainsi un véritable cristal d'acide désoxyribonucléique (WILKINS et RANDALL, 1953). En réalité,

tout récemment GRASSÉ, CARASSO et L'AVARD (1955 *b*) ont montré dans de magnifiques photographies au microscope électronique, que les chromosomes s'orientaient bien parallèlement à l'axe longitudinal du noyau dans la spermatide de l'Écargot.

Ainsi, on constate 2 étapes nettement différentes dans l'évolution du noyau des spermatides de Bélier. Au cours de la première, c'est-à-dire jusqu'au stade 1 inclus, toutes les spermatides de la nouvelle génération possèdent des noyaux ronds ; au contraire, au cours de la deuxième partie de la spermiogenèse (stade 2-stade 8) toutes les spermatides possèdent des noyaux allongés ayant une forme très voisine de celle des spermatozoïdes. Nous verrons, dans la suite, qu'on peut utiliser cette particularité pour déterminer la quantité de spermatides présentes dans un testicule et en déduire une méthode indirecte de calcul de durée du cycle spermatogénétique.

q) **Formation du système acrosomique** (fig. 28). — Au stade 5, l'idiosome légèrement coloré par l'acide periodique-Schiff est souvent éloigné du noyau. Puis, alors qu'il se rapproche du noyau et vient s'appliquer sur celui-ci, 2 à 3 petits granules proacrosomiques colorables apparaissent en lui.

Au stade 6, les granules proacrosomiques fusionnent en un seul granule acrosomique qui est déposé sur le noyau. Ce dernier, d'ailleurs, donne parfois l'impression de s'aplatir très légèrement à cet endroit alors que de chaque côté du granule acrosomique, un capuchon, appliqué sur la membrane nucléaire, commence à se développer. Pendant ce temps une structure granulaire fait saillie sur un côté de l'idiosome (fig. 29).

Au stade 7 la structure granulaire et l'idiosome formant le reste du Golgi ont commencé leur migration dans le cytoplasme. Cet ensemble présente fréquemment une forme en U dont l'ouverture est dirigée vers le noyau. Le capuchon céphalique s'accroît jusqu'à recouvrir $1/5$ du noyau et le granule acrosomique augmente de volume et s'aplatit un peu.

Au stade 8 le reste du Golgi encore entier se fragmente (la structure granulaire se séparant du reste de l'idiosome), et il n'est pas rare de rencontrer 2 ou 3 granules dont la migration semble plus lente, abandonnée par le reste de Golgi. Le capuchon s'est encore accru et recouvre environ $1/3$ du noyau.

Au stade 1, la majeure partie du reste de Golgi est arrivée au pôle postérieur du noyau et une fraction en forme de gouttelette est alors visible à l'origine du filament axial. Le capuchon céphalique recouvre plus de la $1/2$ du noyau (fig. 30).

Au stade 2, par suite de l'allongement et de l'aplatissement du noyau, le granule acrosomique prend la forme d'un coin très allongé. De plus, le noyau étant légèrement incurvé latéralement, le granule acrosomique n'est pas dans le prolongement de celui-ci. Le capuchon céphalique épouse

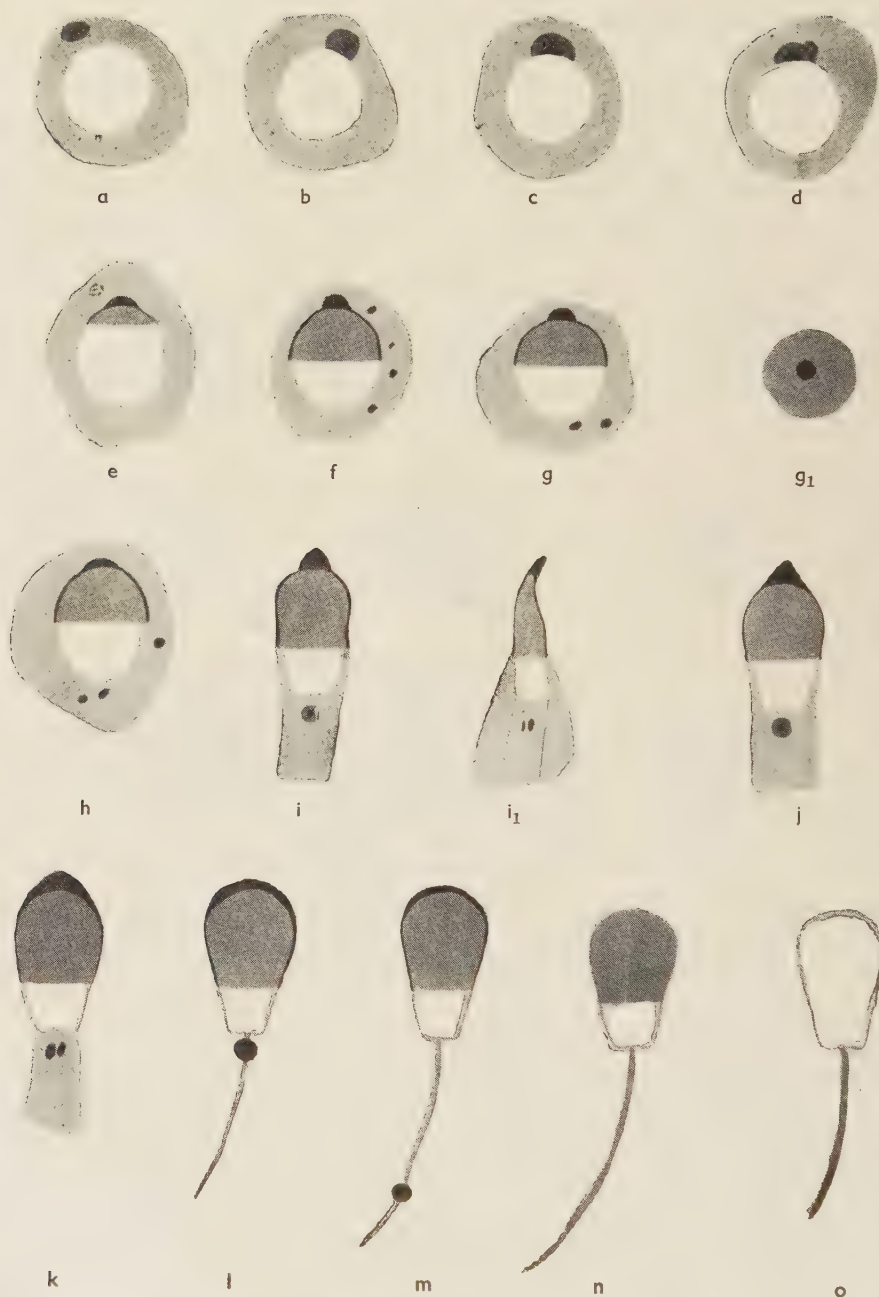


FIG. 28. — Formation et évolution de l'appareil acrosomique du spermatozoïde du bélier (P. A. S.). — *a-d* : formation du granule acrosomique par fusion des granules proacrosomiques contenus dans l'idiosome (stades 5-7). — *e-h* : formation de la coiffe céphalique à partir du granule acrosomique. Migration du reste de Golgi vers la partie postérieure du noyau (stades 7-fin 1). — *i-l* : formation du système acrosomique par aplatissage de l'acrosome sur la tête du spermatozoïde (stades 2 à 8). Formation de la gouttelette cytoplasmique à partir du reste de Golgi. — *m-o* : Elimination de l'acrosome, puis de la coiffe céphalique au cours de la conservation des spermatozoïdes éjaculés.

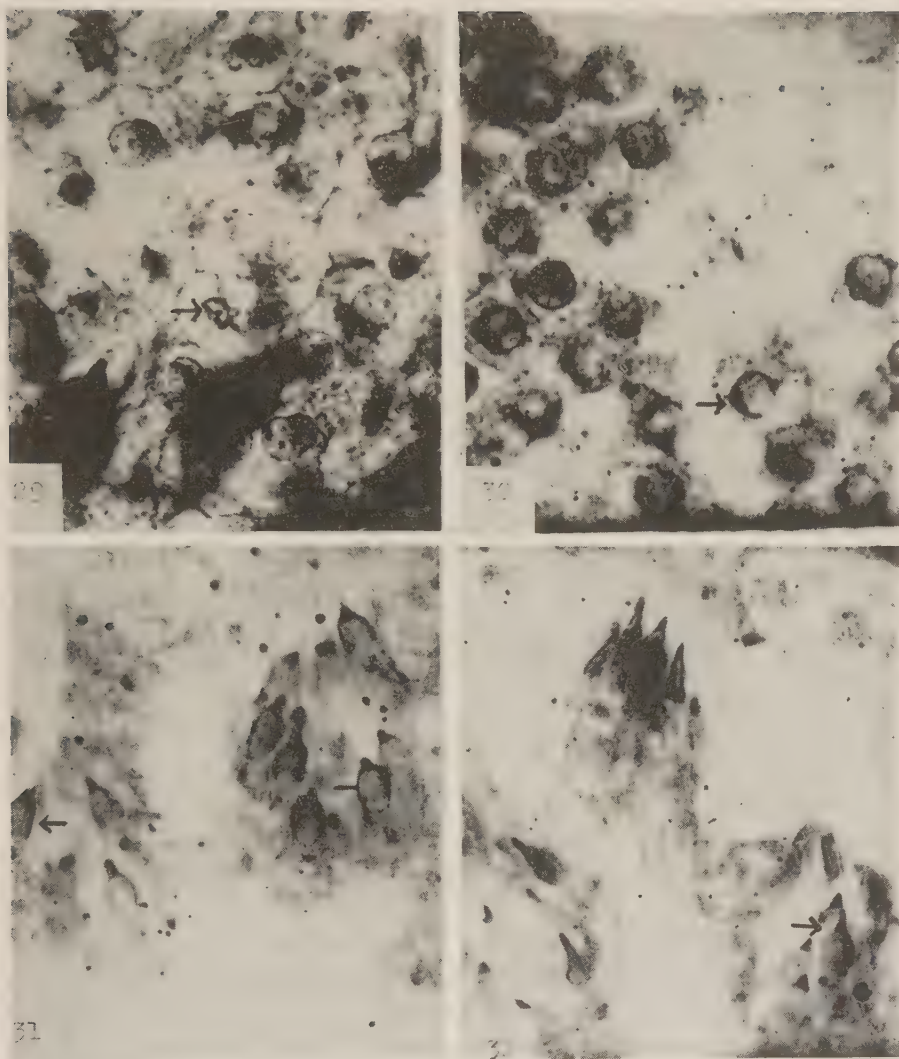


FIG. 29 — Dépôt du granule acrosomique sur le noyau des spermatides (stade 6) ($\times 1150$).

FIG. 30. — Formation de la coiffe céphalique (stade 1) ($\times 1150$).

FIG. 31. — Allongement du système acrosomique (stade 2) ($\times 1150$).

FIG. 32. — Allongement de l'acrosome en forme de coin (stade 3) ($\times 1150$).

toujours la forme du noyau, il a donc subi les mêmes modifications de forme que celui-ci ; de plus il recouvre les $2/3$ du noyau (fig. 31).

Au stade 3 le capuchon céphalique présente un renflement à la partie postérieure ; ce renflement fut déjà observé par CLERMONT (1953) et CLERMONT et LEBLOND (1955), mais ces auteurs n'ont pas su l'expliquer. Nous pensons qu'il est en rapport avec la formation de la manchette. Le granule acrosomique commence à s'aplatir sur le capuchon céphalique (fig. 32).

Au stade 4, le renflement postérieur du capuchon céphalique disparaît, disparition qui semble liée au glissement du cytoplasme sur la partie postérieure du noyau. Dans les stades suivants : 5, 6, 7 et 8, le capuchon céphalique ne subit pas de modification apparente autre qu'une diminution progressive de colorabilité par l'acide periodique-Schiff. Par contre le granule acrosomique continue de s'étaler sur le capuchon céphalique. Il forme ainsi un croissant sombre sur la partie antérieure de la tête du spermatozoïde, croissant dont les bords descendent presque jusqu'à mi-hauteur du capuchon céphalique. On peut alors le qualifier d'acrosome ; sa colorabilité diminue également. Aux stades 7 et 8 le corps cytoplasmique résiduel est expulsé dans la lumière du tube, entraînant avec lui le reste du Golgi, reste qui n'est pas intervenu dans la constitution ni du système acrosomique, ni de la gouttelette cytoplasmique de la partie antérieure de la pièce intermédiaire.

c) Évolution des autres constituants cytoplasmiques :

α) *L'appareil centriolaire* : comprenant les deux centrioles et le filament axial, il évolue rapidement au début de la spermiogenèse. Les centrioles migrent très tôt à la partie postérieure du noyau (stade 6), le filament axial semble prendre naissance au cours de cette migration. Au début il est courbé à l'intérieur du cytoplasme mais, dès le stade 8, il fait saillie hors du cytoplasme. Au stade 1, le centriole distal, qui a pris une forme annulaire, migre le long du filament axial à une certaine distance du noyau. Chez le Bélier le centriole proximal ne semble pas se diviser bien que, dans certains cas, on puisse apercevoir 2 granules dans le « cou » des spermatozoïdes. GRESSON et ZLOTNIK (1945) avaient déjà fait cette observation ; elle fut confirmée par RANDALL et FRIEDLANDER (1950) qui, à l'aide du microscope électronique, ne constatèrent la présence que d'un seul centriole proximal sur le spermatozoïde même de Bélier.

β) *Les mitochondries* qui, au début sont réparties dans le cytoplasme, se rassemblent ensuite à la périphérie du tube caudal, où elles sont particulièrement visibles au stade 3. Puis, du stade 5 au stade 7, elles se groupent autour du filament axial. Le groupement des mitochondries parti-

culièrement net au stade 8, s'effectue sous forme de spirale qu'on peut mettre en évidence à l'aide du microscope à contraste de phase ou mieux avec la technique de Gomori, pour la phosphatase acide.

γ) *Le tube caudal*, d'origine cytoplasmique puisqu'il n'est pas coloré par la réaction nucléale de Feulgen, apparaît très bien au stade 2. Cependant on peut parfois apercevoir le début de sa formation dès la fin du stade 1. On constate en effet dans la région postérieure du noyau et dans le cytoplasme adjacent des préparations colorées à l'hématoxyline une zone en forme de tube plus sombre que les autres régions du cytoplasme. Ce tube semble s'insérer à la base du capuchon céphalique durant les stades 2 et 3. DUESBERG (1908) avait déjà émis cette opinion alors que CLERMONT (1953) prétend que la ligne d'insertion du tube caudal est située légèrement en dessous du bord postérieur du capuchon céphalique. Ce tube caudal s'allonge dans le corps cytoplasmique plus loin que le centriole distal. Il enrobe entre autres, les deux centrioles, la première partie du filament axial, les mitochondries qui interviendront dans la formation de la pièce intermédiaire et le corpuscule coloré à l'acide periodique-Schiff situé au début du filament axial qui constitue la majeure partie de la gouttelette cytoplasmique de la pièce intermédiaire du spermatozoïde. Contrairement au noyau, ce tube n'est pas aplati latéralement.

Au stade 4 se produit un phénomène extrêmement curieux : *tout se passe comme si le tube caudal glissait le long de la partie postérieure du noyau*. En effet celle-ci présente à ce stade un anneau dont la position est variable mais qui tend à descendre à la partie inférieure. Cet anneau semble bien représenter la ligne d'insertion du tube caudal. De plus, à la fin de ce stade et dans tous les stades ultérieurs, la région postérieure du noyau est plus claire que la région antérieure, alors que précédemment, entourée par le tube caudal, elle était beaucoup plus sombre dans les préparations colorées à l'hématoxyline. Cet anneau représente vraisemblablement l'anneau nucléaire dont parlent avec abondance GRESSON et ZLOTNICK (1945) mais dont ces auteurs n'ont pu déterminer ni l'origine ni la nature. Ce glissement est sans doute consécutif à un écoulement général du cytoplasme. La membrane cytoplasmique vient s'appliquer sur la partie postérieure du noyau et entoure vraisemblablement entièrement celui-ci comme l'a montré CHALLICE (1953) sur la Souris.

Que devient alors le tube caudal? Disparaît-il purement et simplement comme l'envisageaient MEVES (1899), SCHOENFELD (1901), DUESBERG (1908) ou BRANCA (1924), ou bien constitue-t-il une des gaines cytoplasmiques qui entourent la pièce intermédiaire comme le pensaient NIESSING (1897), LENHOSSEK (1898), VAN MOLLE (1906), GRESSON et ZLOTNICK (1945), CLERMONT (1953)? Il nous est impossible de répondre d'une façon certaine à cette question. Il nous paraît que la deuxième hypothèse est plus logique, mais nous n'avons pu la démontrer.

En résumé, s'il existe quelques différences entre la spermiogenèse du Rat et celle du Bélier, notamment en ce qui concerne la forme finale



FIG. 33. — Évolution du tube caudal (Hématoxyline de Regaud). — *a* : migration du centriole distal (stade 1). — *b-c* : formation du tube caudal à la partie postérieure du noyau et écoulement du cytoplasme (stades 2-3). — *d-e* : écoulement du tube caudal le long de la partie postérieure du noyau. Les mitochondries se sont groupées le long du filament axial (stades 4-5). — *f-g* : fin de la formation du spermatozoïde (stade 8).

de la tête des spermatides, nous trouvons une évolution parallèle des principaux constituants. De plus, comme chez le Rat, la spermiogenèse ne s'accomplit entièrement que lorsque se déroulent environ 1,5 cycles de l'épithélium séminifère.

CONCLUSION A LA 1^{re} PARTIE.

Nous connaissons maintenant la plupart des éléments du cycle spermatogénétique chez le Bélier, éléments que nous avons groupés dans le tableau XIII.

Nos résultats montrent d'une façon nette que, chez le Bélier comme chez divers animaux de laboratoire (Rat, Hamster), les transformations d'une certaine catégorie de cellules germinales s'effectuent toujours en étroite corrélation avec celles des autres catégories de cellules germinales. Il en résulte des associations cellulaires fixes, qui, par leur succession, constituent un *cycle de l'épithélium séminifère* dont les divers stades peuvent être définis en faisant appel à un certain nombre de grands phénomènes spermatogénétiques : divisions méiotiques, changement de forme des noyaux de spermatides, libération des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères. Nous avons pu ainsi déterminer 8 *stades dont les proportions relatives sont absolument constantes d'un Bélier à un autre*, mais différentes de celles constatées chez d'autres espèces comme le Rat.

Le mode de renouvellement des spermatogonies chez le Bélier est très voisin de celui décrit chez le Rat et le Hamster par CLERMONT et LEBLOND (1953), CLERMONT (1954) sous le nom de « théorie du renouvellement de la cellule-souche ». La première division spermatogoniale donne naissance à deux cellules : l'une va se diviser 4 fois avant d'évoluer en spermatocytes, tandis que l'autre servira de cellule-souche pour le cycle spermatogénétique suivant ; chez le Rat et le Hamster, cependant, la séparation de la cellule-souche ne s'effectue qu'après la deuxième division spermatogoniale. Cette étude nous a permis de *déterminer d'une manière précise l'origine du cycle spermatogénétique*.

La spermiogenèse est tout à fait comparable dans sa complexité à celle des animaux de laboratoire (Rat et Hamster) bien que la forme finale de la tête du spermatozoïde soit différente.

On constate en outre que le cycle spermatogénétique exige pour être accompli entièrement le déroulement de 4,68 cycles de l'épithélium séminifère (fig. 34), les différentes générations spermatogoniales représentant 36 p. 100, l'évolution des spermatocytes primaires 32 p. 100 et la spermiogenèse 30 p. 100 du cycle total.

Le phénomène le plus remarquable qui se dégage de cette étude est l'extrême *rigidité avec laquelle se déroule le cycle de l'épithélium séminifère* : fixité des associations cellulaires rencontrées, constance de leurs proportions respectives. Pour que ceci puisse se réaliser il est nécessaire que chaque processus simple du cycle spermatogénétique ait une durée constante, autrement dit que la durée totale du cycle soit elle-même une constante. C'est ce que nous allons essayer de démontrer dans une deuxième partie.

TABLEAU XIII

Stades du cycle de l'épithélium séminifère et éléments du cycle spermatogénétique chez le Béher

Stade 1 21,7 ± 0,9 %	Stade 2 10,6 ± 0,8 %	Stade 3 18,4 ± 0,6 %	Stade 4 10,5 ± 0,5 %	Stade 5 4,2 ± 0,4 %	Stade 6 13,1 ± 0,8 %	Stade 7 10,8 ± 0,7 %	Stade 8 10,3 ± 0,6 %
Spermatogonte A	Division de Spg A (x Spg A)	1 Spermatogone A ₁ (Spg A ₂)	Division de 2 Spg A ₂ (x Spg A ₂)	2 Spermatogones intermédiaires 2 Spg In	Division de Spg In	4 Spermatogones B ₁ → (4 Spg B)	8 Spermatogones B ₂ (8 Spg B ₂)
16 Spermatoctes au stade prélepto- tène (Spc I)	16 Spc I leptotène	16 Spc I leptotène + zygotène	16 Spc I zygotène	16 Spc I zygotène + pachytène	16 Spc I pachytène	16 Spc I pachytène	16 Spc I pachytène.
16 Spc I pachytène, puis diplotène	16 Spc I diplotène.	16 Spc I diplotène, puis diachnèse.	x Spc I = 32 sper- matocytes II (Spc II) x Spc II.	64 Spermatoctes à réseau chroma- tique Spc I	64 Spc I à poussière chromatique, granule acroso- mique, formation capuchon cépha- lique.	64 Spc I poussière reuses, capuchon céphalique = 1/5 du noyau.	64 Spc I capuchon céphalique = 1/3 du noyau.
Orientation du granule acrosomique des 64 Spc I vers membrane basale. Capuchon cé- phalique = 1/2 du noyau.	Allongement du noyau des 64 Spc I = 64 Spc I. Tube caudal.	Les 64 Spc I se mettent en fais- ceau à pointe di- rigée vers élé- ments de Sertoli.	Glissement du tube caudal	Rassemblement des mitochondries près filament axial.	Granule acrosomi- que aplati sur noyau. Faisceau de 64 Spc I près des noyaux de Sertoli.	Faisceaux de 64 Spc I s'ajointent noyaux de Sertoli. Pièce intermé- diaire constituée.	Apparition goutte- lette cytoplasmique. 64 Spermatoctes bordent lumière tube séminifère. Élimi- nation 64 Spc I.

→ sens de l'évolution des cellules germinales.

Diagramme du Cycle spermatogénétique chez le Bélier

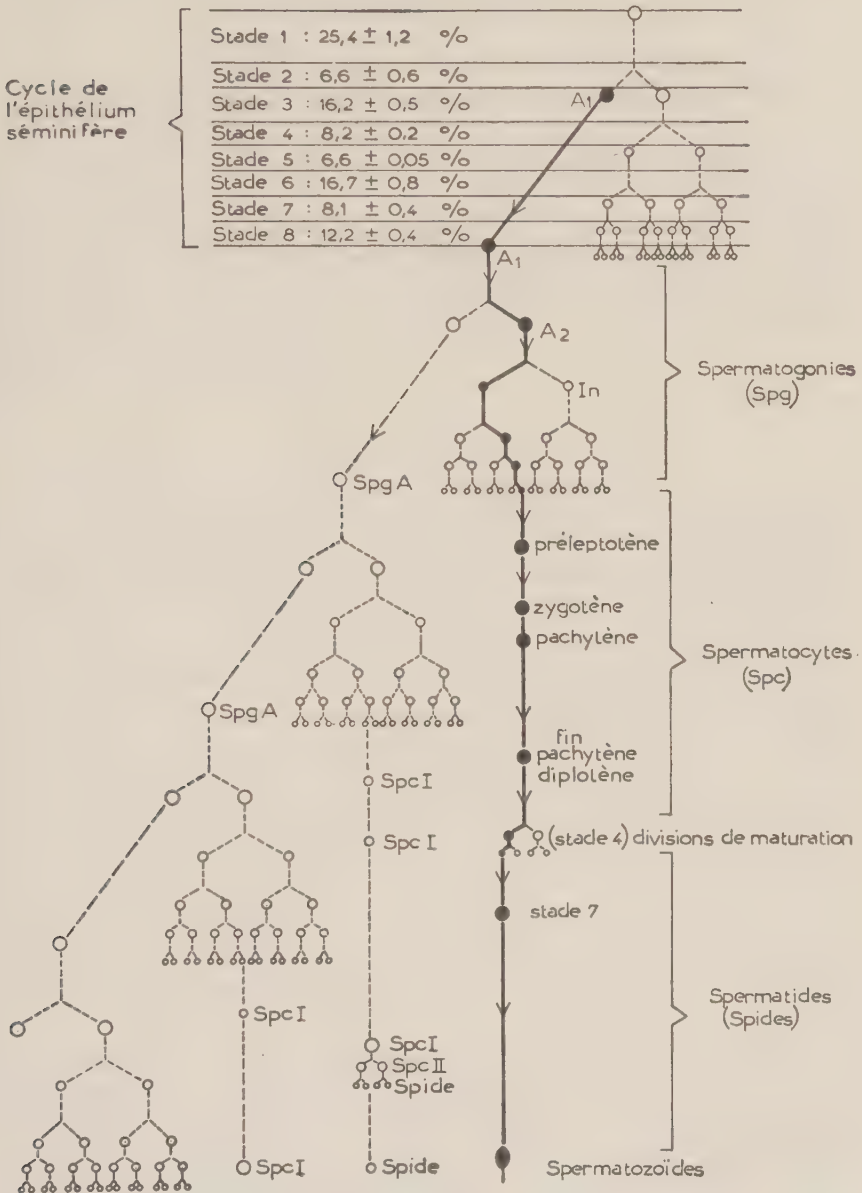


FIG. 34.

La ligne renforcée représente l'évolution d'une lignée spermatogénétique depuis la spermatogonie souche A₁ jusqu'à la libération des spermatozoïdes issus de celle-ci. L'évolution d'une telle lignée s'accompagne du déroulement de près de 5 cycles de l'épithélium séminifère, chaque cycle coïncidant avec une série de multiplications spermatogoniales. Les fréquences relatives des stades du cycle de l'épithélium séminifère sont celles indiquées dans le tableau VI.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE DE LA DURÉE DU CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE

La détermination de la durée du cycle spermatogénétique est difficile car elle exige d'une part une connaissance parfaite des processus spermatogénétiques, et, d'autre part, la mise au point d'une technique précise de mesure n'affectant pas la vitesse de déroulement de ceux-ci. La nécessité de réunir ces deux conditions explique pourquoi, malgré l'importance de cette question, il n'existe que peu de travaux dont les résultats sont d'ailleurs discordants.

I. — HISTORIQUE

a) **Études basées sur les mitoses et méioses.** — Nous trouvons dans VON EBNER (1902) le premier essai de calcul de la durée du cycle spermatogénétique du Rat. L'estimation est basée sur la durée des divisions spermatocytiques et la proportion de celles-ci dans l'onde spermatogénétique. VON EBNER trouve que la longueur de l'onde spermatogénétique est de 32 mm et que celle de la phase des mitoses spermatocytiques est égale à 0,28 mm en moyenne, soit 0,87 p. 100 de l'onde totale. Estimant qu'une division spermatocytique dure 30 minutes, il calcule qu'une onde spermatogénétique demande environ 5 jours pour être achevée ; supposant enfin que le cycle spermatogénétique est constitué de 4 ondes égales, il en conclut qu'il s'écoule 20 jours du début à la fin de celui-ci. Mais les calculs de VON EBNER ne sont basés que sur peu d'observations ; ROOSEN-RUNGE et GIESEL (1950) ont trouvé que les divisions spermatocytiques représentent non 0,87 p. 100 mais 5 p. 100 de l'onde totale ; enfin, comme nous l'avons déjà vu, le cycle spermatogénétique est constitué par plus de 4 ondes.

Plus récemment, ROOSEN-RUNGE (1951) a essayé de calculer la durée du cycle spermatogénétique du Rat en utilisant une méthode voisine de la précédente. Cet auteur tient compte de la durée et de la fréquence des mitoses spermatogoniales. La durée d'une mitose spermatogonale est calculée en déterminant le nombre de divisions s'accumulant dans le testicule pendant un temps déterminé après injection de colchicine à des Rats : ROOSEN-RUNGE trouve 48 minutes. Ayant observé que 0,83 p. 100 des spermatogonies sont normalement en mitose, il en déduit que la durée du cycle spermatogénétique est égale à 16 jours. La méthode

de calcul de ROOSEN-RUNGE est très séduisante, mais elle n'est valable que si, d'une part, la colchicine bloque toutes les mitoses spermatogoniales pendant le temps d'observation, et si, d'autre part, les mitoses spermatogoniales sont également réparties dans le temps.

Pendant un cycle de 24 heures, ROOSEN-RUNGE (1951), CLERMONT (1953) n'ont pas trouvé de pointe d'activité mitotique dans le testicule de Rat, mais chez la Souris, LANGENDORFF (1936) a observé que le nombre de mitoses spermatogoniales présentait deux maxima.

b) Etudes basées sur la destruction et la régénération de l'épithélium séminifère. — Une série d'autres méthodes repose sur l'arrêt de la spermatogenèse par un agent nocif (chaleur, rayons X) et sur l'étude du déroulement des processus spermatogénétiques non atteints ou de la régénération de l'épithélium séminifère.

ASDELL et SALISBURY (1941) ont appliqué cette méthode au Lapin. Ancrant pendant un certain temps les testicules de Lapin dans la cavité générale pour déterminer une dégénérescence séminale, puis, les ramenant dans le scrotum, ils ont pu suivre la vitesse de régénération de l'épithélium séminifère. Ces auteurs ont ainsi constaté qu'il faut une semaine pour l'établissement de chaque couche cellulaire et que la spermiogenèse n'est complète qu'au bout de 2 semaines : le cycle total exige donc plus de 4 semaines pour être mené à bonne fin. Mais rien ne prouve que dans de telles conditions la régénération représente exactement le phénomène physiologique normal.

SHAVER (1953 *a* et *b*) a effectué une étude précise dans ce domaine. Il a montré, sur des Rats impubères, que l'irradiation à l'aide de Rayons X, à la dose de 500 r, ne ralentit pas le processus spermatogénétique : en effet, les différentes générations de cellules germinales apparaissent au même âge, chez les animaux impubères irradiés et chez les animaux impubères témoins. Chez les Rats adultes, seules les mitoses des spermatogonies poussièreuses sont bloquées ; les spermatogonies croûteuses et les autres cellules germinales (spermatocytes, spermatides) continuent normalement leur développement. Mais la source spermatogonale étant tarie, on constate que les tubes séminifères sont vides de spermatozoïdes, 27 jours après l'irradiation. SHAVER en conclut que la durée du processus spermatogénétique est de 27 jours, résultat très voisin de celui qu'avait déjà obtenu P. HERTWIG (1938) par la même méthode. OAKBERG (1956), reprenant cette étude chez la Souris, calcule que la durée du cycle spermatogénétique est de 34,5 jours.

c) Etudes basées sur les éléments marqués. — Enfin, une dernière série de travaux met en œuvre les éléments radioactifs pour marquer les cellules germinales. HOWARD et PELC (1950) utilisant la technique autoradiographique trouvent que, chez la Souris ayant reçu du ^{32}P , la durée du cycle spermatogénétique est comprise entre 10 et 15 jours. Plus

récemment, GLUCKSMANN, HOWARD et PELC (1955) indiquent que cette durée est en réalité de 26 jours, à la suite d'études effectuées à l'aide de ^{35}S . Chez le Lapin enfin, KOEFED-JOHNSEN (1956) constate que la durée de formation des spermatozoïdes est supérieure à 40 jours, rejoignant ainsi les valeurs avancées par ASDELL et SALISBURY (1941). KARPOV (1935) trouve que le processus spermatogénétique dure 21 jours chez le Rat blanc, dont 10 jours sont occupés par la spermiogenèse. Malheureusement, nous n'avons pas pu obtenir de précisions sur la méthode utilisée par KARPOV pour effectuer son calcul.

Sur le Bélier, il n'existe à notre connaissance, aucune étude précise. Seul, le travail de PHILLIPS et ANDREWS (1936) peut donner quelques indications : sur des Béliers impubères ces auteurs ont suivi l'apparition des différentes générations de cellules germinales et ont constaté que les spermatocytes de premier ordre apparaissent 63 jours, ceux du second ordre 126 jours et les spermatozoïdes, enfin, 147 jours après la naissance. Ces vitesses de développement sont lentes, mais elles ne se rapportent pas à des animaux adultes. Or VAN WAGENEN et SIMPSON (1954) ont montré, sur le Singe Rhesus, qu'un certain nombre de générations de cellules germinales (spermatocytes, spermatides) effectuent des tentatives avortées de développement au début de l'établissement de la spermatogenèse, au moment de la puberté. Il en est de même, sans doute, pour un certain nombre d'autres espèces.

Nous avons donc cherché à déterminer quelle était la durée du processus spermatogénétique chez le Bélier adulte, par différentes méthodes. La première repose sur le calcul de la production, par unité de temps, d'une catégorie de cellules germinales dont on connaît les proportions par rapport à l'ensemble des autres cellules germinales. On peut en déduire la durée du cycle spermatogénétique par un raisonnement simple : c'est une méthode indirecte.

Une autre méthode consiste à marquer les cellules germinales à un point quelconque du cycle et à suivre, en fonction du temps, le sort de ces cellules privilégiées : c'est une méthode directe.

II. — MÉTHODE INDIRECTE DE DÉTERMINATION DE LA DURÉE DU CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE

Les cellules les plus aisément reconnaissables de l'épithélium séminifère sont les spermatides dont le noyau est allongé et tend à prendre la forme de la tête des spermatozoïdes. Ces cellules représentent une fraction constante de l'ensemble des spermatides : nous les rencontrons en effet toujours aux stades 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8 tels que nous les avons définis. Comme d'autre part nous savons qu'une spermatogonie souche pro-

duit en période sexuelle 64 spermatides, les spermatides à noyaux allongés représentent bien une constante spermatogénétique. Si nous déterminons, d'une part, l'ensemble de ces spermatides dans le testicule et, d'autre part, leur production par unité de temps, nous pouvons en déduire la durée de vie moyenne de ces cellules dans le testicule. Il est alors facile, puisque cette partie de la spermiogénèse représente une fraction constante et connue du cycle spermatogénétique, d'en déduire la durée de celui-ci. Le problème consiste donc à déterminer :

- 1^o la quantité totale de spermatides à noyaux allongés dans le testicule ;
- 2^o le débit quotidien du testicule en spermatozoïdes, puisque ceux-ci représentent le stade final de ces spermatides.

A. — QUANTITÉ TOTALE TESTICULAIRE DE SPERMATIDES A NOYAUX ALLONGÉS (ORTAVANT, 1952)

1^o Résultats : Relations avec le poids du testicule et variations saisonnnières.

Nous avons vu précédemment comment effectuer la détermination de la quantité totale de noyaux ayant la forme des têtes des spermatozoïdes, quantité que nous avons appelée *le nombre testiculaire*. Les résultats obtenus sont inscrits dans les tableaux XIV et XV.

TABLEAU XIV

*Poids des testicules en grammes (P) et nombre testiculaire en 10⁸ (spz)
des Béliers de race Ile-de-France.*

Saison sexuelle (Sept., Oct., Nov., Dec.)				Saisons transitoires				Saison non sexuelle (Mars, Avril, Mai, Juin)			
				1. — (Janvier, Février)		2. — (Juillet, Août)					
P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N
129	143	223	246	103	98	96	111	128	69	330	224
135	146	230	161	105	112	105	99	144	87	330	261
138	117	232	215	108	120	164	259	163	166	340	242
140	166	232	201	109	65	164	232	168	140	400	358
150	153	232	220	114	120	166	162	178	110		
153	110	233	176	115	142	168	187	186	141		
160	131	245	242	116	142	175	196	187	130		
160	156	245	365	117	99	209	176	196	161		
160	194	261	414	121	85	215	193	207	223		
165	197	266	279	132	84	252	153	210	198		
167	167	278	317	187	170	270	173	222	205		
185	162	282	297	220	214	295	253	245	259		
193	238	288	302	220	218	325	413	249	223		
194	260	308	295	225	208			250	254		
204	273	337	281	243	315			275	224		
209	163	338	396	246	327			278	223		
210	223	359	400	380	194			288	300		
221	344	358	377	383	259			308	144		
223	246							325	171		

On constate que le nombre testiculaire varie de 65.10^8 à 414.10^8 spermatoïdes à noyaux allongés ; les variations sont donc importantes. Mais,

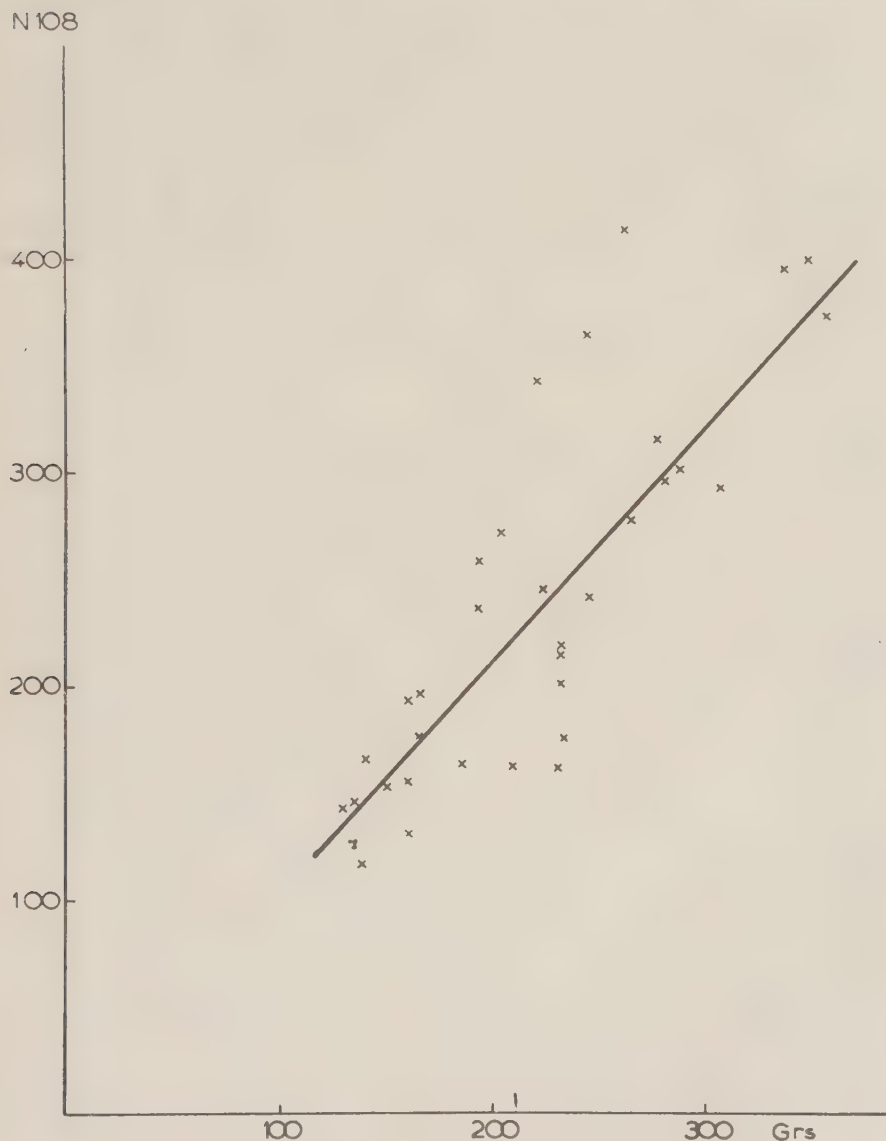


FIG. 35. — Relation entre le poids et le nombre testiculaires chez le Bélier pendant la saison sexuelle.

on remarque que ces variations sont en général de même sens que le poids du testicule. Cela est surtout vrai pendant la saison sexuelle (septembre, octobre, novembre, décembre), ainsi que le montre le graphique de la fig. 35. En effet, pour cette saison au cours de laquelle la spermato-

TABLEAU XV

Poids (en grammes) et nombre testiculaire (en 10^8) moyens pour les différentes saisons

Caractéristiques	Saison sexuelle	Saisons transitoires		Saison non sexuelle
		1	2	
Poids	223 ± 11	180 ± 21	200 ± 20	243 ± 15
Nombre testicul...	237 ± 14	165 ± 17	$200 \pm 22,8$	196 ± 15
Nombre d'échantillons.....	36	18	13	23

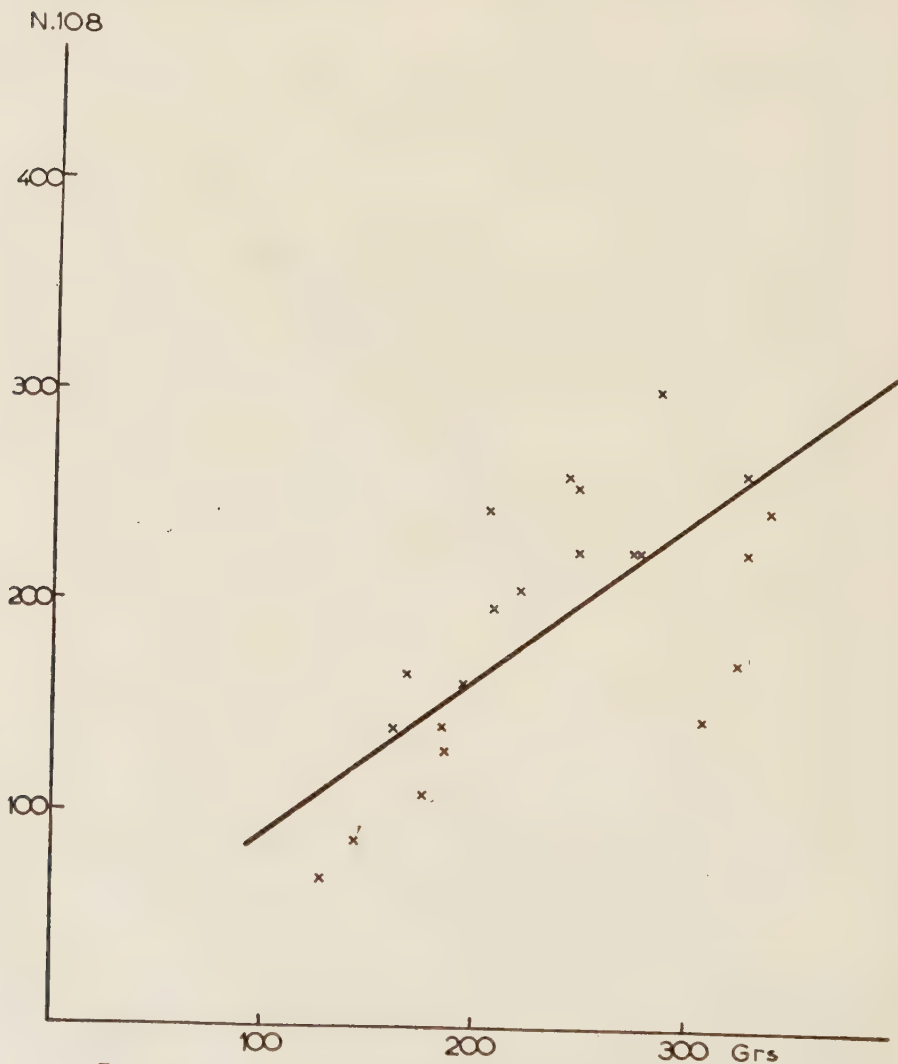


FIG. 36. — Relation entre le poids et le nombre testiculaires chez le Bachelier pendant la saison non sexuelle.

genèse est très active, le coefficient de corrélation entre le poids du testicule et le nombre testiculaire est égal : $r = + 0,84$, et la droite de régression de N en P a pour équation : $N = 1,09 P - 6$, N étant exprimé en 10^8 et P en grammes.

Pour les autres saisons, le coefficient de corrélation est légèrement plus faible, mais cependant nettement significatif. Pour les périodes transitoires : janvier et février d'une part, juillet et août d'autre part, il est égal à : $r = + 0,75$, et pour la saison non sexuelle (mars, avril, mai, juin) à $r = + 0,77$.

Dans ce dernier cas la droite de régression de N en P a pour équation : $N = 0,93 P + 18$.

Si on divise le nombre testiculaire par le poids du testicule, on obtient une valeur qui caractérise l'activité spermatogénétique d'un gramme de testicule, et qu'on peut appeler coefficient d'activité testiculaire.

Ce coefficient pour la saison sexuelle varie de 0,71 à 1,58 mais la majorité des chiffres se situe aux environs de 1,0, la moyenne est en effet de $1,05 \pm 0,04$. Ceci signifie qu'un gramme de testicule pendant la saison sexuelle renferme $1,05 \cdot 10^8$ noyaux en forme de tête de spermatozoïde. Pendant les autres saisons le coefficient est un peu plus faible puisque pour la période transitoire nous trouvons $0,92 \pm 0,06$, et pendant la saison non sexuelle : $0,80 \pm 0,04$. On constate donc ainsi, que l'efficacité spermatogénétique du testicule de Bélier est soumise à des variations saisonnières importantes : la différence entre la saison sexuelle et la saison non sexuelle étant nettement significative.

Nous avons cherché à déterminer si, sur des Béliers soumis à l'électroéjaculation pendant des périodes allant de 1 à 2 mois, l'activité spermatogénétique était modifiée. Sur 17 testicules de tels Béliers, nous avons trouvé un poids moyen de 246 grammes et un nombre testiculaire moyen de $203 \cdot 10^8$. Le coefficient d'activité testiculaire s'élevait en moyenne à $0,85 \pm 0,06$, alors que celui des Béliers au repos sexuel pendant la même période, était égal à $0,98 \pm 0,05$. Bien que le coefficient obtenu pour les Béliers soumis à l'électroéjaculation soit un peu plus faible, la différence n'est cependant pas significative par suite de la grande variabilité des chiffres obtenus, car nous avons opéré non seulement en saison sexuelle, mais aussi en période transitoire.

D'ailleurs les images histologiques obtenues sur des testicules de Béliers soumis à l'électroéjaculation ne diffèrent pas de celles obtenues sur des Béliers au repos sexuel. Ceci confirme d'ailleurs ce que GUNN (1936) avait trouvé sur 16 Béliers soumis à un traitement prolongé d'électroéjaculation.

2° Signification du nombre testiculaire par rapport au cycle spermatogénétique.

Dans ce que nous avons appelé le nombre testiculaire, sont comptés d'une part les spermatides à noyaux allongés et les spermatozoïdes encore attachés à l'épithélium séminifère et d'autre part, les spermatozoïdes libérés dans la lumière des tubes séminifères en direction de la tête de l'épididyme ; cette dernière fraction n'intervenant plus dans le cycle spermatogénétique, il est indispensable d'en déterminer l'importance. Divers renseignements fournis dans la littérature nous permettent d'aborder ce problème. MASON et SHAVER (1952) ont injecté du Bleu trypan sous la tunique albuginée des testicules de Hamster. Ils ont constaté que ce colorant traversait facilement la paroi des tubes séminifères et atteignait rapidement la sortie du testicule. Injecté au pôle caudal du testicule, le bleu trypan est retrouvé moins de 3 jours après, non seulement dans les canaux efférents, mais aussi dans les premiers segments du conduit épидидymaire. SHAVER (1954) après injection d'encre de Chine dans le rete testis constate que les particules d'encre atteignent presque *immédiatement* la masse coudée des canaux efférents et après 1 heure, la tête de l'épididyme. Si on suppose que les particules de colorant sont transportées par le fluide testiculaire à la même vitesse que les spermatozoïdes puisque ceux-ci sont immobiles (TOOTHILL et YOUNG, 1931 ; YOUNG, 1933), les expériences précédentes permettent de supposer que les spermatozoïdes détachés de l'épithélium séminifère sont très rapidement transportés dans la tête de l'épididyme.

Chez le Bélial, les injections d'encre de Chine au pôle inférieur du testicule ne nous ont pas permis d'obtenir des renseignements précis. On retrouve bien des particules d'encre de Chine dans les canaux efférents 36 heures après l'injection, mais on ne peut dire si celles-ci proviennent du fluide testiculaire ou si elles ont été véhiculées par le sang. MASON et SHAVER (1952) ont en effet montré que certains colorants introduits dans la circulation s'accumulaient préférentiellement dans la tête de l'épididyme.

Il faut noter également que, sur les coupes histologiques, on trouve très peu de spermatozoïdes libres dans la lumière des tubes séminifères en dehors du stade 8, phénomène déjà remarqué par LEBLOND et CLERMONT (1952). On pourrait penser que des spermatozoïdes sont perdus lorsqu'on isole les fragments de testicule au cours des différentes manipulations histologiques (SCHOENFELD, 1901). Cependant ce phénomène est certainement peu important, car, après les mêmes manipulations, on trouve la lumière du canal épидидymaire remplie de spermatozoïdes ; de plus, dans la partie proximale du canal épидидymaire où les coupes histologiques ne révèlent que peu de spermatozoïdes, les numérations faites

après broyage et macération indiquent également des chiffres très faibles. Tout ceci nous permet d'affirmer que les pertes en spermatozoïdes libérés dans la lumière des tubes séminifères sont faibles au cours des manipulations histologiques.

On peut conclure que les spermatozoïdes en transit ne représentent qu'une faible réserve : d'après la vitesse de passage des colorants et l'étude histologique des testicules cette quantité de spermatozoïdes n'est pas supérieure à la production d'un jour à un jour et demi.

Ainsi, le nombre testiculaire, déduction faite de la masse spermatique véhiculée, représente la quantité de spermatides à noyaux allongés et de spermatozoïdes accrochés à l'épithélium séminifère du stade 2 au stade 8.

B. — DÉBIT TESTICULAIRE QUOTIDIEN EN SPERMATOZOÏDES

La production quotidienne de spermatozoïdes peut être estimée en effectuant des collectes régulières de sperme. Mais, entre le testicule et l'éjaculat s'intercale l'épididyme qui contient d'importantes réserves en spermatozoïdes, réserves qui influent sur la quantité de spermatozoïdes récoltés. Il est donc essentiel d'en effectuer l'étude si l'on veut calculer la production réelle du testicule.

1° Caractéristiques générales du canal épидидymaire du Bélier.

La structure anatomique et histologique de l'épididyme a été bien étudiée par BENOIT (1925). C'est à son étude, ainsi qu'aux traités de SISSON et GROSSMAN (1948) et TRAUTMANN et FIEBIGER (1952), que nous faisons appel pour décrire les principales caractéristiques des voies excrétrices chez le Bélier.

Chez cet animal, le rete testis au lieu d'être superficiel comme chez la Souris, le Rat et l'Homme, pénètre profondément dans l'axe longitudinal du testicule. Les canaux efférents ne sont pas individualisés mais forment la majeure partie de la tête de l'épididyme et se jettent successivement dans le canal épидидymaire. De la tête de l'épididyme, triangle à sommet tourné vers le bas et situé à la partie supérieure du testicule, le canal épидидymaire descend le long du testicule en constituant le corps de l'épididyme et enfin s'élargit à la partie inférieure du testicule pour former la queue de l'épididyme. Puis le canal déférent lui fait suite : il remonte le long du corps de l'épididyme et, par le canal inguinal, pénètre dans la cavité abdominale ; il se termine par une dilatation : l'ampoule déférentielle.

Le canal épидидymaire est bordé par un épithélium dont la hauteur varie : très haut dans le segment initial il est plus bas dans la partie cau-

dale. La fonction glandulaire de cet épithélium est importante dans la première partie du canal et faible dans la deuxième.

Le canal épидидymaire est entouré par une couche parfois très mince et difficile à voir de fibres musculaires lisses circulaires. Cette couche s'épaissit considérablement au niveau de la queue de l'épididyme et, à la naissance du canal déférent, elle se double d'une couche externe de fibres musculaires longitudinales. C'est ce qui explique l'intervention du contenu de cette partie de l'épididyme dans la formation de l'éjaculat par suite de la contraction de ces fibres (CHANG, 1945).

Le canal épидидymaire est en général extrêmement long. BUCHMAN (1939) a trouvé que la longueur totale d'un canal épидидymaire est de 60 mètres chez 2 Béliers Rambouillet adultes et de 40 mètres chez un Bélier Rambouillet de 18 mois et un Bélier Lincoln adulte, celle des canaux efférents étant de 10 à 13 mètres. Ces chiffres sont tout à fait comparables à ceux rapportés par GHETTE (1939) chez le Verrat (55 à 64 mètres) et par VAU et LAURINCAA (1939) et GHETTE chez l'Etalon (48 à 86 mètres). Par contre la longueur du canal épидидymaire humain est beaucoup plus faible puisque FLORU (1946) la situe entre 2,60 mètres et 3,30 mètres.

Les différentes parties de l'épididyme ne sont d'ailleurs pas toutes constituées par la même longueur du canal épидидymaire. C'est ainsi que, chez le Bélier, BUCHMAN (1939) trouve que 44 p. 100 de la longueur totale du conduit sont situés dans la tête de l'épididyme, alors que 27 p. 100 seulement se trouvent dans la partie caudale. Cependant, comme le diamètre du canal est beaucoup plus important dans la partie caudale que dans la partie proximale, le volume utilisable pour le stockage des spermatozoïdes est finalement plus grand dans la première que dans la deuxième. Tous les auteurs qui ont fait des déterminations de réserves spermatiques trouvent en effet une quantité de spermatozoïdes bien plus grande dans la queue que dans les autres parties de l'épididyme.

EDWARDS (1940) constate que, chez le Lapin non soumis à des collectes, la queue renferme 85,7 p. 100 et la tête seulement 10,5 p. 100 des réserves spermatiques. Chez le Verrat, NOVOSELJCEV (1951) trouve que 68,1 p. 100 des spermatozoïdes sont stockés dans la queue de l'épididyme.

Sur 2 Béliers au repos sexuel POLOVCEVA (1938) compte 76,1 p. 100 des réserves spermatiques dans la queue de l'épididyme, 11,3 p. 100 dans la tête et 12,6 p. 100 dans le corps ; enfin CHANG (1945) apporte des résultats comparables puisqu'il situe 73,3 p. 100 des spermatozoïdes dans la queue, 16,3 p. 100 dans la tête et 9,0 p. 100 dans le corps de l'épididyme. Les chiffres totaux de spermatozoïdes trouvés par ces auteurs sont extrêmement élevés ainsi qu'en témoigne le tableau XVI.

Les réserves épидидymaires sont donc très importantes si l'on songe qu'une collecte de sperme sur un bélier donne en moyenne 3 à 5.10⁹ spermatozoïdes ainsi que nous l'avons indiqué précédemment.

TABLEAU XVI

Réserves spermatiques chez le Bélier au repos sexuel, pour un épидидyme (10⁹ spz).

Auteur	Ampoule	Canal déférent	Epididyme			
			Queue	Corps	Tête	Total
POLOVCEVA (1938)	?	?	61,634	10,258	9,179	81,056
CHANG (1945)	0,151	0,761	52,170	4,22	8,627	65,932

2^o Étude des réserves épидидymaires chez les Béliers de race Ile-de-France. (ORTAVANT. 1952)

a) **Béliers au repos sexuel.** — Avec une technique de broyats identique à celle que nous avons utilisée sur le testicule nous avons pu déterminer l'état des réserves spermatiques épидидymaires sur des Béliers de race Ile-de-France. Ces résultats sont rapportés dans le tableau XVII.

TABLEAU XVII

Réserves spermatiques épидидymaires (10⁹ spz) des Béliers Ile-de-France au repos sexuel (pour un épидидyme).

Origine	Nombre (N) testiculaire	Epididyme			
		Tête (T)	Corps (C)	Queue (Q)	Total
Saison sexuelle . . .	23,2 ± 1,55	11,51 ± 1,09 14,3 %	5,72 ± 0,64 7,1 %	63,11 ± 5,14 78,5 %	80,36 ± 6,41
Nombre de données	30	30	30	30	30
Saison sexuelle + Saison transitoire . .	20,7 ± 1,26	9,95 ± 0,89 14,0 %	5,33 ± 0,79 7,5 %	55,0 ± 4,32 78,5 %	70,70 ± 5,37
Nombre de données	48	48	48	48	48

On peut noter que les chiffres trouvés sont sensiblement identiques à ceux donnés par POLOVCEVA (1938) et CHANG (1945).

Il existe cependant des variations individuelles importantes. Les valeurs extrêmes sont inscrites dans le tableau XVIII.

TABLEAU XVIII

Valeurs extrêmes des réserves spermatiques épидидymaires (10⁹ spz) (pour un épидидyme).

Partie	Tête (T)	Corps (C)	Queue (Q)	Total
Minimum	0,64	0,35	14,63	18,13
Maximum	28,8	32,92	162,43	191,44

Mais, si l'on compare la quantité de spermatozoïdes trouvés dans chacune des parties de l'épididyme avec le nombre testiculaire, on constate que chaque fois il existe une corrélation positive significative entre les deux données (tableau XIX).

Ainsi le nombre de spermatozoïdes présents en chaque point de l'épididyme est fonction du nombre de têtes spermatiques trouvées dans le testicule. Le nombre testiculaire représente donc bien une valeur caractéristique de la source spermatique. Il permet de détecter les variations qui sont intervenues dans l'intensité de la spermatogenèse beaucoup plus rapidement que ne le permet l'étude des réserves épididymaires ou des éjaculats.

TABLEAU XIX

Corrélation entre le nombre testiculaire et les réserves spermatiques épididymaires pendant la saison sexuelle et les périodes transitoires.

Caractéristiques statistiques	Corrélation entre le nombre testiculaire et			
	l'épididyme	la tête	le corps	la queue
Valeur	$r = + 0,69$	$r = + 0,70$	$r = + 0,71$	$r = + 0,64$
Nombre d'échantillons.....	48	48	45	47
Test statistique....	significatif	significatif	significatif	significatif

b) **Béliers soumis à des collectes par électroéjaculation.** — Si l'on effectue les mêmes études sur des Béliers soumis à des collectes quotidiennes par électroéjaculation pendant des périodes variant de 32 à 50 jours, on constate que la répartition des réserves spermatiques n'est pas la même ainsi que le montre le tableau XX.

TABLEAU XX

Comparaison des réserves spermatiques chez des Béliers au repos sexuel et des Béliers soumis à des collectes par électroéjaculation (10⁹spz).

Béliers	Nombre (N) testiculaire	Épididyme		
		Tête (T)	Corps (C)	Queue (Q)
<i>Repos sexuel.....</i>	$20,7 \pm 1,3$	$9,9 \pm 0,90$	$5,3 \pm 0,80$	$55,0 \pm 4,3$
Nombre de données	48	48	46	48
<i>Électroéjaculation...</i>	$18,2 \pm 1,5$	$8,7 \pm 1,2$	$6,1 \pm 1,3$	$35,6 \pm 5,8$
Nombre de données	18	18	18	18

On s'aperçoit immédiatement que la principale différence porte sur les réserves spermatiques de la partie caudale de l'épididyme. Le comportement des différentes parties de l'épididyme est particulièrement bien mis en évidence si on compare les réserves de chacune de celles-ci

avec le nombre testiculaire (tableau XXI). On constate, en effet, que le rapport entre les deux données n'a pas varié pour la tête et le corps de l'épididyme, mais qu'il a fortement diminué pour la queue de l'épididyme.

TABLEAU XXI

Rapport des réserves spermatiques épидидymaires au nombre testiculaire.

Béliers	$\frac{T}{N}$	$\frac{C}{N}$	$\frac{Q}{N}$
<i>Repos sexuel</i>	$0,47 \pm 0,03$	$0,25 \pm 0,04$	$2,69 \pm 0,17$
Nombre de données.....	48	48	48
<i>Électroéjaculation</i>	$0,46 \pm 0,05$	$0,31 \pm 0,06$	$1,80 \pm 0,07$
Nombre de données.....	18	18	18

POLOVCEVA (1938) observe également des réserves réduites dans la partie distale de la queue de l'épididyme après des collectes répétées sur des Béliers ; ALMQUIST et HALE (1956) ont fait la même constatation chez le Taureau. Par contre, nos résultats ne confirment pas les variations des réserves des autres parties de l'épididyme rapportées par POLOVCEVA (1938) : augmentation dans la partie proximale de la queue, diminution dans le corps ; ils indiquent au contraire que les réserves profondes de l'épididyme ne sont pas affectées.

Ainsi, après des collectes de sperme répétées, les réserves spermatiques de la queue de l'épididyme sont diminuées, mais celles des autres parties ne sont pas affectées. Une fraction des spermatozoïdes récoltés correspond à la production testiculaire pendant la même période de temps, tandis que l'autre fraction a été empruntée aux réserves déjà existantes.

3^e Calcul de la production quotidienne de spermatozoïdes.

La prodigalité de la production des spermatozoïdes par le testicule est un phénomène frappant, que l'on considère le nombre de spermatozoïdes trouvés dans un éjaculat, ou le nombre de spermatozoïdes conservés dans les réserves épидидymaires. Cette production est continue car les différentes sections des tubes séminifères ne se trouvant pas toutes au même stade du cycle de l'épithélium séminifère, il y en a toujours quelques-unes au stade 8 au cours duquel les spermatozoïdes sont libérés dans la lumière des tubes séminifères.

a) **Historique.** — Peu d'auteurs ont essayé de déterminer la production quotidienne des spermatozoïdes.

Chez le Bélier, CHANG (1945) a montré que la production quotidienne minimum d'un Bélier Suffolk ou Romney Marsh était de $4,4.10^9$ spermatozoïdes et la production maximum de $8,6.10^9$ spermatozoïdes. Les calculs de cet auteur sont basés sur le fait que les spermatozoïdes de l'épi-

didyme de Lapin et de Cobaye gardent leur capacité fertilisante sans détérioration pendant 30 jours en moyenne (HAMMOND et ASDELL, 1927 ; MOORE, 1928 ; YOUNG, 1929*b*). Mais il n'est pas certain qu'il en est de même chez le Bélier.

D'autre part, il est difficile de se baser *uniquement* sur les collectes pour calculer la production quotidienne de spermatozoïdes. Chez le Taureau, WALTON et EDWARDS (1938) dans une expérience avec un groupe de 5 animaux dont 10 éjaculats étaient collectés en l'espace de 2 heures sur chacun d'entre eux, constatèrent que les Taureaux ne se classaient dans un ordre stable pour la production de spermatozoïdes qu'après la 5^e ou 6^e collecte. C'est pourquoi, chez le Lapin, EDWARDS (1940), après avoir provoqué une diminution de l'importance des réserves épидидymaires par des récoltes fréquentes, étudie le taux de production spermatogénétique en effectuant hebdomadairement une série de 10 collectes. Cependant, il est possible qu'avec des intervalles de collectes d'une semaine les phénomènes de résorption se manifestent : ALMQUIST et HALE (1956) ont en effet montré que la quantité de spermatozoïdes récoltés était influencée par le nombre de collectes effectuées par semaine.

C'est pourquoi il nous a paru indispensable de reprendre cette étude chez le Bélier en effectuant des collectes quotidiennes et en tenant compte des modifications des réserves spermatiques.

b) **Résultats.** — La quantité de spermatozoïdes recueillis pendant une période de temps donnée représente non seulement la production testiculaire pendant cette période, mais aussi la quantité de spermatozoïdes prélevés sur les réserves épидидymaires.

L'équation théorique permettant de déterminer sur une période de n jours la production moyenne testiculaire quotidienne sera donc :

$$x = m - \frac{Q_1 - Q_2}{n} \quad (1) \text{ (ORTAVANT, 1952)}$$

dans laquelle :

m = quantité moyenne des spermatozoïdes collectés quotidiennement pendant n jours.

Q_1 = réserves de la queue de l'épididyme en début d'expérience.

Q_2 = réserves de la queue de l'épididyme en fin d'expérience.

S'il est facile de déterminer Q_2 en castrant les animaux à la fin de l'essai, il est difficile de déterminer Q_1 puisque l'intégrité de l'épididyme est indispensable aux récoltes. Nous avons vu cependant que les réserves spermatiques étaient en corrélation avec le nombre testiculaire (N) aussi bien pour les Béliers au repos sexuel que pour les Béliers soumis à l'électroéjaculation. Dans le premier cas, on obtient un rapport $\frac{Q_1}{N} = 2,69 \pm 0,17$ et dans le deuxième cas, un rapport $\frac{Q_2}{N} = 1,80 \pm 0,07$.

Par conséquent, l'équation (1) peut très bien s'écrire, à condition que les Béliers utilisés soient au repos sexuel au début de l'expérience :

$$x = m - \frac{(2,69 - 1,80)N}{n}$$

ou plus généralement :

$$x = m - \frac{(a_1 - a_2)N}{n}, \quad (2)$$

dans laquelle $a_1 = \frac{Q_1}{N}$

$$a_2 = \frac{Q_2}{N}$$

(N est le même puisque nous avons vu que l'électroéjaculation ne modifiait pas le coefficient d'activité testiculaire).

Les résultats que nous avons obtenus sur nos Béliers Ile-de-France sont résumés dans le tableau XXII.

TABLEAU XXII

Caractéristiques des Béliers soumis à l'électroéjaculation (10^9 spz).

m	N	Q_2	n jours	Nombre de données
$2,45 \pm 0,31$	$18,2 \pm 1,5$	$35,6 \pm 5,8$	40	18

On peut donc calculer la production testiculaire moyenne des Béliers soumis à l'expérience. L'équation (2) devient :

$$x = \frac{2,45 - (2,69 - 1,80) \cdot 18,2}{40} \cdot 10^9$$

soit $x = 2,05 \pm 0,26 \cdot 10^9$ spermatozoïdes par jour et par testicule.

On peut calculer, de même, que la production testiculaire quotidienne des Béliers Ile-de-France, varie en période sexuelle entre 4 et $7 \cdot 10^9$ spermatozoïdes, la moyenne se situant autour de $5,5 \cdot 10^9$ spermatozoïdes.

Nous aboutissons à peu près aux mêmes résultats que CHANG (1945) chez des Béliers Suffolk. Cela représente une production de $216 \cdot 10^6$ spermatozoïdes à l'heure ou $3,61 \cdot 10^6$ à la minute. On peut même calculer qu'un gramme de tissu testiculaire fabrique $12,2 \cdot 10^6$ spermatozoïdes par jour, soit $0,508 \cdot 10^6$ par heure ou 8.460 à la minute. Cette production est très comparable à celle rapportée par EDWARDS (1940) pour le Lapin, ainsi qu'à celles déjà indiquées dans des résultats préliminaires chez des Béliers Ile-de-France (THIBAUT, 1952).

Le testicule est donc un tissu présentant une très grande activité prolifique. Elle est cependant inférieure à celle de la moelle osseuse hématopoïétique qui régénère par jour un minimum de 200 milliards d'hématies (NIZET, 1955) ce qui représente une production de $166 \cdot 10^6$ hématies par jour et par ml de moelle osseuse hématopoïétique.

C. — CALCUL DE LA DURÉE DU CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE

Nous possédons maintenant toutes les données nécessaires au calcul de la durée du cycle spermatogénétique.

1° Nous connaissons d'une part la production de spermatides par jour, soit :

$$x = 2,05 \pm 0,26 \cdot 10^9.$$

2° Nous pouvons déterminer d'autre part la quantité de spermatides possédant un noyau allongé. Nous avons vu en effet que le nombre testiculaire est constitué non seulement par l'ensemble de ces spermatides dans l'épithélium séminifère, mais aussi par les spermatozoïdes libérés dans la lumière des tubes séminifères et migrant vers la tête de l'épididyme. Cette dernière fraction étant approximativement équivalente à la production quotidienne testiculaire, la quantité totale S de spermatides à noyau allongé est égale à :

$$S = 18,2 \cdot 10^9 - 2,05 \cdot 10^9 = 16,15 \cdot 10^9.$$

La durée de la fraction de la spermiogenèse au cours de laquelle les noyaux des spermatides sont allongés est égale à :

$$S_a = \frac{S}{x} = \frac{16,15}{2,05} = 7,9 \text{ jours.}$$

3° Nous savons, enfin, que cette fraction de la spermiogenèse (stades 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8) représente 78,3 % du cycle de l'épithélium séminifère soit :

$$\frac{0,783}{4,68} \times 100 = 16,7 \%$$

du cycle spermatogénétique.

Le déroulement de ce dernier demande donc :

$$\frac{7,9}{16,7} \times 100 = 47,2 \text{ jours,}$$

soit une durée beaucoup plus importante que celle indiquée par les différents auteurs.

Certains d'entre eux ont pris l'origine du cycle spermatogénétique au moment où la spermatogonie souche est prête à se diviser (ROOSEN-RUNGE et GIESEL, 1950 ; ROOSEN-RUNGE, 1951 ; VON EBNER, 1902). Il s'agit là, en réalité d'un cycle réduit. La durée de celui-ci est alors égale à :

$$\frac{47,2 \times 4}{4,673} = 40,4 \text{ jours.}$$

C'est le résultat que nous indiquions déjà dans une communication antérieure (ORTAVANT, 1954 c).

Cependant la précision obtenue à l'aide de cette méthode est assez faible, à moins d'opérer sur un très grand nombre d'animaux. Dans nos expériences la déviation standard de la durée moyenne du cycle spermatogénétique est d'environ 10 jours. Il était donc nécessaire de confirmer ces résultats par une autre voie.

III. — DÉTERMINATION DE LA DURÉE DES PROCESSUS SPERMATOGÉNÉTIQUES A L'AIDE DU ^{32}P

Ainsi par une méthode indirecte nous avons pu fixer approximativement la durée du cycle spermatogénétique chez le Bélier. Mais les valeurs auxquelles nous arrivons diffèrent sensiblement de celles rapportées par la plupart des auteurs et la précision de cette méthode se révélant insuffisante, nous avons été amenés à vérifier les valeurs obtenues par une mesure directe. Une telle mesure implique que l'on puisse suivre dans le temps l'évolution d'une cellule ou d'un groupe de cellules. Les éléments radioactifs permettent, en choisissant convenablement l'élément utilisé, de marquer sélectivement certaines catégories de cellules et de suivre ces cellules privilégiées au cours du déroulement de certains processus biologiques. C'est pourquoi nous avons utilisé cette technique.

A. — HISTORIQUE. LES SPERMATOZOÏDES ET LES ÉLÉMENTS MARQUÉS

Les premiers, BISHOP et WEINSTOCK (1948) ont montré que, chez le Taureau, les spermatozoïdes éjaculés absorbent rapidement *in vitro* du ^{32}P administré sous forme de phosphate disodique. Même à fortes doses (0,1 mC par ml de suspension) cet élément n'a aucun effet nuisible sur la motilité des spermatozoïdes. BISHOP (1952) a ensuite constaté que l'absorption du ^{32}P , dont la majeure partie est incorporée dans la fraction acido-soluble des spermatozoïdes, est liée à l'activité métabolique de ceux-ci. Plus tard, DI STEFANO et MAZIA (1953) ont trouvé qu'une assez forte proportion de ^{32}P s'incorpore aussi dans la fraction ribonucléique des pièces intermédiaires de spermatozoïdes d'Oursin.

BENGTTSSON (1949) a injecté du ^{32}P à des Lapins mâles et a détecté une forte radioactivité dans le sang et le foie des femelles une heure après la saillie par ces mâles marqués, montrant ainsi que l'incorporation du phosphore radioactif se produit également *in vivo*. LORENTZ, CAVOULAS et CARSON (1950) ont confirmé ce fait chez le Coq adulte : le maximum de radioactivité du plasma séminal arrive plusieurs jours après celui du plasma sanguin ; de plus les spermatozoïdes lavés ne sont fortement radioactifs qu'après un délai de plusieurs semaines. Ce sont les premiers

auteurs ayant observé l'existence d'ondes radioactives successives dans le sperme recueilli à des temps différents après l'injection.

De même, HEATH et autres (1953) ont constaté dans leurs études sur la formation de l'ergothionéine que les spermatozoïdes peuvent montrer une certaine radioactivité quelques semaines après l'absorption par des Verrats de sulfate ou de méthionine marqués avec du ^{35}S .

Mais ces différents auteurs n'ont pas exploité ces observations très importantes pour l'étude du cycle spermatogénétique.

Une telle étude fut entreprise par HOWARD et PELC (1950) à l'aide de la technique autoradiographique sur des testicules de Souris ayant reçu du ^{32}P . Ces auteurs n'ont effectué aucune séparation systématique des différentes fractions phosphorées, les variations de radioactivité enregistrées par l'émulsion ne sont donc pas forcément dues aux mêmes composés chimiques. Enfin, fait plus grave, ils ne semblent pas avoir tenu compte de la totalité du déroulement du cycle spermatogénétique. Plus récemment GLUCKSMANN, HOWARD et PELC (1955) ont repris cette étude à l'aide de ^{35}S et aboutissent à une durée de la spermatogenèse égale à 26 jours, sensiblement plus élevée que celle admise précédemment (16 jours).

Le ^{32}P a également été employé pour l'étude du passage des spermatozoïdes dans le canal épидидymaire par RISLEY, SODERWALL, CHAIMOV (1954 *a*) et RISLEY (1955) chez le Hamster. Ces auteurs ont mis en évidence des variations de radioactivité dans les différentes parties de l'épididyme et observé une progression du maximum de radioactivité vers la partie terminale du canal épидидymaire. Enfin SIRLIN et EDWARDS (1955) ont étudié l'apparition de spermatozoïdes marqués après injection d'adenine-8- C^{14} à des souris.

B. — RECHERCHES PERSONNELLES (ORTAVANT, 1954 *c, d* ; 1956 *a*).

L'un des avantages de l'utilisation du phosphore réside dans le fait que la teneur des spermatozoïdes en cet élément est relativement très élevée, ainsi que l'indiquent les résultats de MANN (1954).

TABLEAU XXIII

*Distribution des composés phosphorés dans le sperme de Bélier
(d'après MANN, 1954).*

Composé phosphoré	mg P/100 ml sperme		
	Sperme total	Spermatozoïdes	Plasma
P total.....	328,5	186,7	141,8
P acido-soluble.....	159,4	27,4	132,0
P phospholipides.....	30,8	27,9	2,9
P ADN.....	111,0	111,0	0
P résiduel.....	27,3	20,4	6,9

Par contre, la teneur en S est deux fois plus faible que celle en P (ZITTLE et O'DELL, 1941).

De plus, la séparation des différentes fractions phosphorées semble plus facile que celle des différentes fractions soufrées.

Ce sont ces raisons qui nous ont amené à utiliser le ^{32}P de préférence au ^{35}S , bien que son efficacité autoradiographique soit plus faible (HERZ, 1951 ; LAMERTON, 1953).

1° Incorporation du ^{32}P dans les cellules germinales.

L'examen des autoradiographies des coupes de tubes séminifères ayant subi l'extraction des fractions phosphorées autres que la fraction désoxyribonucléique révèle que, 24 heures après l'injection de ^{32}P , les noyaux des jeunes spermatocytes (stades 1 et 2 du cycle de l'épithélium séminifère) sont pratiquement les seuls parmi ceux des cellules germinales autres que les spermatogonies à manifester d'une façon constante une forte radioactivité. Les autoradiographies sont particulièrement démonstratives lorsqu'elles se trouvent au-dessus de coupes sous-tangentiellles passant au niveau de tels spermatocytes. Ces cellules constituent alors une zone homogène de grande surface, permettant une détermination facile de l'origine de la radioactivité (fig. 37 et 38). Celle-ci se manifeste par la présence de nombreuses traces d'électrons et par le nombre de grains d'argent beaucoup plus grand au-dessus de ces noyaux que sur ceux des autres cellules germinales (tableau XXIV).

TABLEAU XXIV

Nombre de grains d'argent au-dessus des noyaux des cellules germinales du testicule de Bélier 24 heures après l'injection de ^{32}P (ORTAVANT, 1956).

Stade	Nombre de grains par noyau diminué du nombre de grains dans le « fond » pour la même surface			Nombre de noyaux		
	Spermato- cytes I	Spermato- cytes I	Spermatides	Spermato- cytes I	Spermato- cytes I	Spermatides
1.....	4,1	2,9	1,0	280	475	588
2.....	8,2	4,6	0,5	212	238	343
3.....	3,3	3,4	0,2	257	280	383
5-6.....	2,6		0,8	38		68
7-8.....	2,6		1,0	336		651

Cependant, on constate que le nombre de grains d'argent trouvés au-dessus de toutes les cellules germinales est supérieur au nombre de grains d'argent rencontrés dans le « fond ». Ceci tient à plusieurs facteurs : d'une part il existe vraisemblablement un très léger renouvellement du phosphore de l'acide désoxyribonucléique des cellules germinales en

dehors des phases de synthèse de ce composé, d'autre part, les parois des tubes séminifères et le tissu intertubulaire présentent une radioactivité non négligeable et des traces d'électrons provenant de ces cellules se retrouvent au-dessus de l'épithélium séminifère.

Nous avons aussi trouvé une certaine radioactivité au-dessus des noyaux des spermatogonies A aux stades 1 et 3, au-dessus des spermatogonies B aux stades 6 et 8, c'est-à-dire avant leur division.

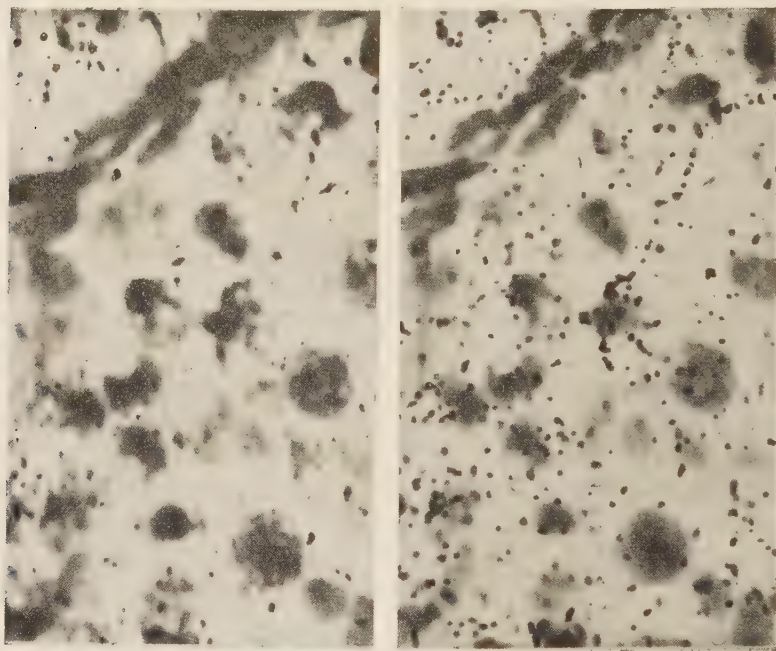


FIG. 37. — Tube séminifère de Bélier (stade 2 du cycle de l'épithélium séminifère) : spermatocytes 1, stade préleptotène (à gauche), et spermatocytes 1, stade diplotène (à droite).

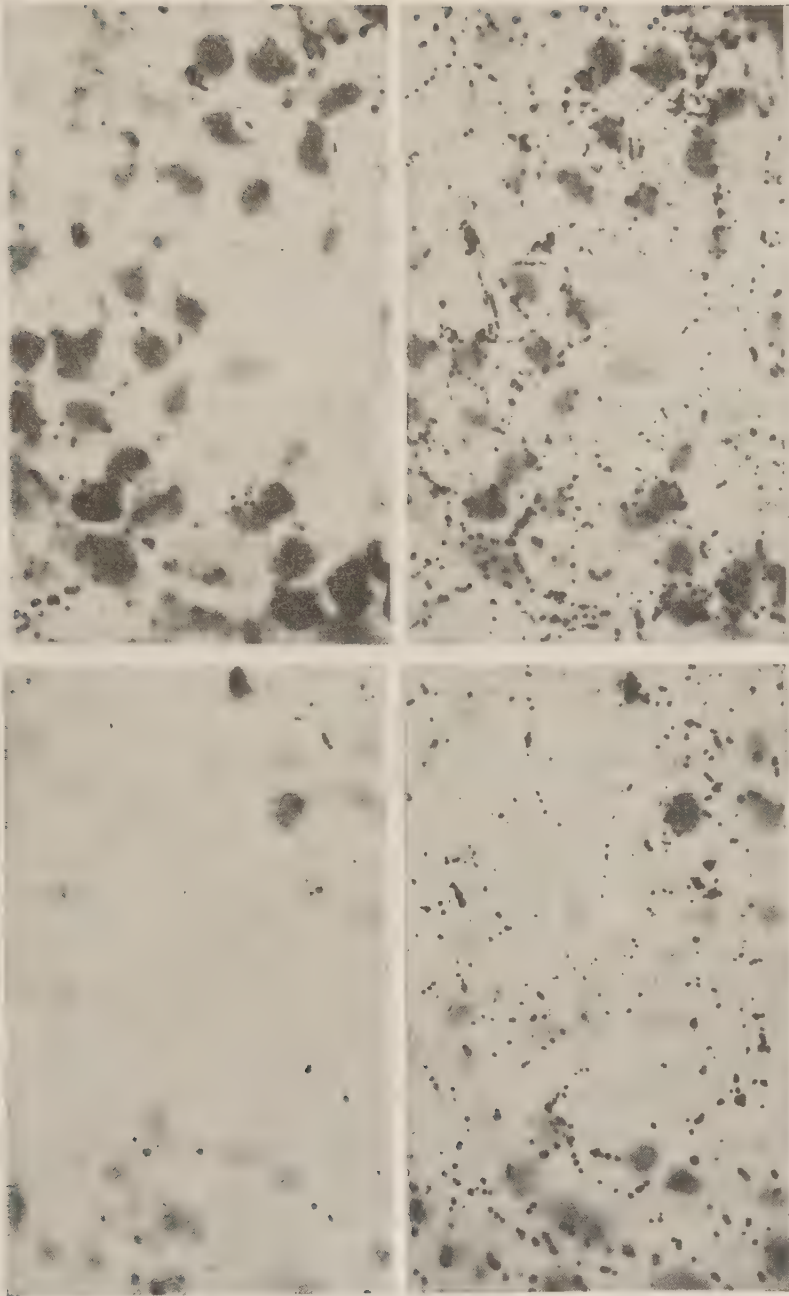
Fig. 38. — Mise au point sur l'émulsion photographique (même tube séminifère), Radioactivité uniquement sur les spermatocytes de gauche. (Injection P^{32} : 1 jour.)

(Extrait des Arch. Anat. Micr. Morph. Exp. 45, 5.)

Cependant, il est à remarquer que les noyaux des spermatogonies étant presque toujours isolés, il nous a été difficile de faire une étude statistique précise.

Il ressort de ce que nous venons de voir que le ^{32}P ne s'incorpore pratiquement pas dans les noyaux des cellules germinales testiculaires après le début du stade leptotène. C'est donc le stade ultime d'incorporation du ^{32}P dans l'ADN au cours du cycle spermatogénétique.

Il devrait donc être possible de suivre la radioactivité dans les cellules issues de ces spermatocytes marqués.



- FIG. 39. — Tube séminifère de Bélier (stade 3 du cycle de l'épithélium séminifère) ; spermatocytes I au stade leptotène.
- FIG. 40. — Mise au point sur l'émulsion photographique (même tube séminifère). Radioactivité très nette des spermatocytes (Injection P^{32} : 2 jours).
- FIG. 41. — Section du même tube séminifère dans la coupe adjacente, après digestion partielle par la DNAase (2 heures, 37°C , tampon véronal).
- FIG. 42. — Mise au point sur l'émulsion photographique (même tube séminifère que la fig. 7). Disparition presque complète de la radioactivité.

(Extrait des Arch. Anat. Micros. Morph. Exp. 45,7)

2° Évolution des noyaux marqués avec du ^{32}P en fonction du temps.

On constate, en effet, que cette forte radioactivité montrée par les noyaux des spermatocytes au stade préleptotène est conservée au cours de l'évolution ultérieure de ceux-ci. Ainsi, 4 jours après l'injection, les noyaux des spermatocytes I au stade zygotène présentent une forte radioactivité, mais celle-ci ne dépasse pas la fin du stade 4 de l'épithélium séminifère. Si on attend encore plus longtemps, avant d'abattre l'animal, on remarque que le front de radioactivité a encore progressé dans le cours du cycle spermatogénétique. En effet, 11 jours après l'injection, on rencontre des spermatocytes I radioactifs au stade diplotène (fin du stade 1 du cycle de l'épithélium séminifère), et 17 jours après, ce sont les noyaux des spermatides sur lesquels se forme la coiffe acrosomique (fin du stade 7 de l'épithélium séminifère) qui impressionnent l'émulsion. La numération des grains d'argent au-dessus de l'épithélium séminifère montre nettement qu'à 17 jours le front de radioactivité s'arrête aux spermatides du stade 7 ; aux stades suivants, les spermatides ne manifestent encore aucune radioactivité (tableau XXV).

TABLEAU XXV

Nombre de grains d'argent au-dessus des spermatides, 17 jours après l'injection de ^{32}P .

Stade	Nombre de grains par spermatide diminué du nombre de grains dans le « fond »	Nombre de grains dans le « fond » pour la même surface	Nombre de Spermatides
5-6 (jeunes spermatides)....	7,5	4,2	107
7 (formation coiffe acrosomique)	10,5	4,2	183
8	1,1	4,5	306
1	1,9	4,6	301
2 (spermatides allongées)...	0,5	4,6	98

En résumé, on peut ainsi suivre la progression des noyaux des cellules germinales marqués au ^{32}P .

Après 24 heures : spermatocytes (stade préleptotène) ;

Après 4 jours : spermatocytes (stade zygotène) ;

Après 11 jours : spermatocytes (fin pachytène, début diplotène) ;

Après 17 jours : spermatides à noyau rond (début de la formation du capuchon céphalique).

Puisque les spermatides à noyau rond possèdent au 17^e jour une radioactivité très nette provenant du ^{32}P incorporé dans l'acide désoxyribonucléique, tout permet de penser qu'il est possible de continuer à suivre le déplacement du front de radioactivité dans le noyau des sper-

matozoïdes. On doit en particulier recueillir à la sortie du testicule dans la tête de l'épididyme des spermatozoïdes radioactifs au bout d'un temps constant après l'injection de ^{32}P . C'est ce que nous allons essayer de vérifier.

3° Évolution de la radioactivité des spermatozoïdes épididymaires.

a) **Radioactivité de l'épididyme.** — Quelques heures après l'injection de ^{32}P la radioactivité de la tête de l'épididyme est importante ; dans les

TABLEAU XXVI

*Variation de la radioactivité de la tête et de la queue de l'épididyme.
(C/Min/gr de matière fraîche). Résultats rapportés à 3 mC injectés.*

Temps après l'injection	3 h	4 j	15 j	23 j	25 j	29 j	37 j
Tête proximale (T_1).....	33 000	33 000	18 200	8 900	6 000	5 400	6 480
Tête distale (T_2).....	21 500	32 400	18 300	13 000	9 260	8 680	12 000
Queue proximale (Q_1)....	11 200	11 400	35 500	23 800	15 600	7 800	3 140
Queue distale (Q_2).....	2 500	6 700	24 000	35 500	18 160	17 360	8 520

autres parties de l'épididyme elle est d'autant plus faible que l'on se rapproche de la queue. Ce phénomène peut être mis en évidence aussi bien en rapportant la radioactivité à la matière fraîche (tableau XXVI et fig. 43) qu'en calculant la radioactivité spécifique du phosphore (ta-

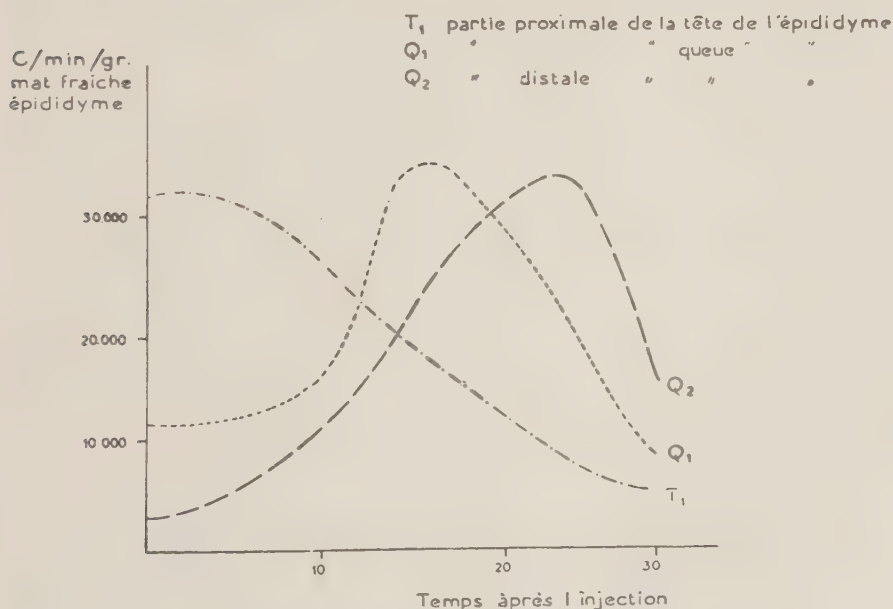


FIG. 43. — Variations de la radioactivité des différentes parties de l'épididyme dans les 30 jours qui suivent l'injection.

bleau XXVII). Puis, la zone de radioactivité maximum se déplace au fur et à mesure que l'on s'éloigne du jour de l'injection : constituant une véritable onde, elle chemine vers l'extrémité distale de l'épididyme en 23 jours environ avec, cependant, d'assez fortes variations individuelles.

TABLEAU XXVII

*Radioactivité spécifique des différentes parties de l'épididyme
(Coups/min/ γ P).*

Temps après l'injection	Tête proximale (T 1)	Tête distale (T 2)	Corps proximal (C 1)	Corps distal (C 2)	Queue proximale (Q 1)	Queue distale (Q 2)
3 heures.....	15,9	5,4	5,5	5,6	4,2	0,6
48 heures.....	136	42	41	6,3	8,5	1,4

Mais, après le 29^e jour, on remarque une légère augmentation de la radioactivité dans les parties proximales de l'épididyme, donnant naissance à une deuxième onde radioactive qui, comme la première, se déplacera vers la queue de l'épididyme.

Il est logique de penser que le déplacement de ces ondes radioactives correspond à celui des spermatozoïdes marqués en des points privilégiés de l'épididyme ou du testicule au moment de l'injection. Pour nous en assurer nous avons séparé les spermatozoïdes du canal épидидymaire et effectué les déterminations de la radioactivité sur les différentes fractions phosphorées des spermatozoïdes comme nous l'avons indiqué précédemment.

b) **Radioactivité des spermatozoïdes épидидymaires.** — Les résidus secs délipidés de spermatozoïdes prélevés aux différents niveaux de l'épididyme subissent exactement la même évolution que les fragments totaux de cet organe. Nous retrouvons les deux ondes de radioactivité : la première prend naissance le jour suivant l'injection de ^{32}P et la deuxième le 30^e ou 31^e jour (tableau XXVIII). Le déplacement de ces ondes correspond bien à celui des spermatozoïdes eux-mêmes ; nous pouvons donc très facilement apprécier la vitesse de déplacement des spermatozoïdes et la durée totale de leur voyage épидидymaire. On constate que, chez des Béliers non soumis à des récoltes de sperme, les spermatozoïdes mettent 21 à 23 jours pour parcourir le canal épидидymaire (fig. 45).

L'analyse des fractions phosphorées montre en outre que la première correspond à du ^{32}P incorporé sous forme acido-soluble alors que la seconde est liée à l'intégration du ^{32}P dans l'acide désoxyribonucléique (tableau XXIX et fig. 44). Ainsi, les spermatozoïdes mis en cause dans cette deuxième onde radioactive proviennent des cellules germinales marquées dont nous avons vu l'évolution dans le testicule.

TABLEAU XXVIII

Variations de la radioactivité des résidus secs délipidés des spermatozoïdes des différentes parties de l'épididyme (C min mg) (Calculs rapportés à une dose de 3 mC injectés).

Temps après l'injection	3 h	18 h	2 j	4 j	7 j	13 j	15 j	23 j	25 j	29 j
Tête distale	1,4	2,2	3,3	16,4	14,4	16,2	10,2	14,4	11,4	10,6
Corps distal	0,3	1,2	2,4	6,4	3,7	12,6	12,5	12,7	8,8	9,0
Queue proximale	0,10	0,8	1,8	1,6	3,6	8,8	10,7	13,0	8,8	10,2
Queue distale	0,06	0,07	0,6	0,1	0,8	4,3	4,4	13,4	12,2	10,2

Temps après l'injection	29 j	31 j	32 j	34 j	37 j	40 j	48 j	49 j	51 j
Tête distale	9,0	28,5	36,5	68,5	184,0	134,0	102,0	72,0	99,2
Corps distal	11,2	7,2	11,2	42,6	128,0	168,0	92,0	85,0	100,6
Queue proximale	14,8	11,7	10,3	6,5	35,2	177,0	138,0	117,0	142,4
Queue distale	14,0	11,0	12,2	7,3	8,0	121,0	146,0 34,4	120,0	147,2 176,0

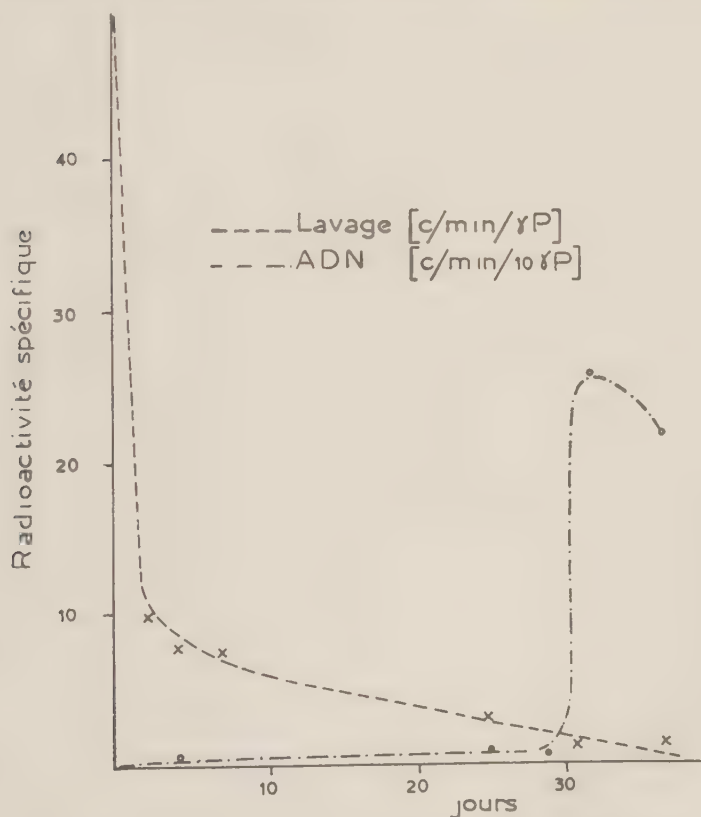


FIG. 44. — Variations de la radioactivité spécifique des spermatozoïdes de la tête de l'épididyme (ORTAVANT, 1956 b).

TABLEAU XXIX

Évolution de la radioactivité spécifique de l'acide désoxyribonucléique des spermatozoïdes de l'épididyme ($C/min/10\gamma P$). (Dose injectée : 3 mC).

Temps après l'injection	3 h	7 j	15 j	23 j	25 j	29 j	29 j	31 j	32 j	34 j	37 j	45 j	48 j	51 j
T ₁	0,0	1,4	0,0	1,2	1,1	1,8	0,6	26	5	10	20	34	27	30
T ₂	0,0	1,0	1,0	0,8	0,2	0,4	8,0	60	22	36	57	52	47	28
C ₁	0,0	0,4	1,0	1,8	0,2	0,2	4,0	3,6	3,0	24	43	38	38	28
C ₂	0,0	1,4	0,9	0,8	0,0	0,5	0,4	0,7	0,4	0,0	7,2	9,0	16	46
Q ₁	0,0	0,0	0,2	0,4	0,2	0,4	0,4	0,7	0,3	0,0	0,7	9,0	47	58
Q ₂	0,0	0,0	0,0	0,4	0,2	1,3	0,0	0,1	0,3	0,0	0,7	9,0	47	58

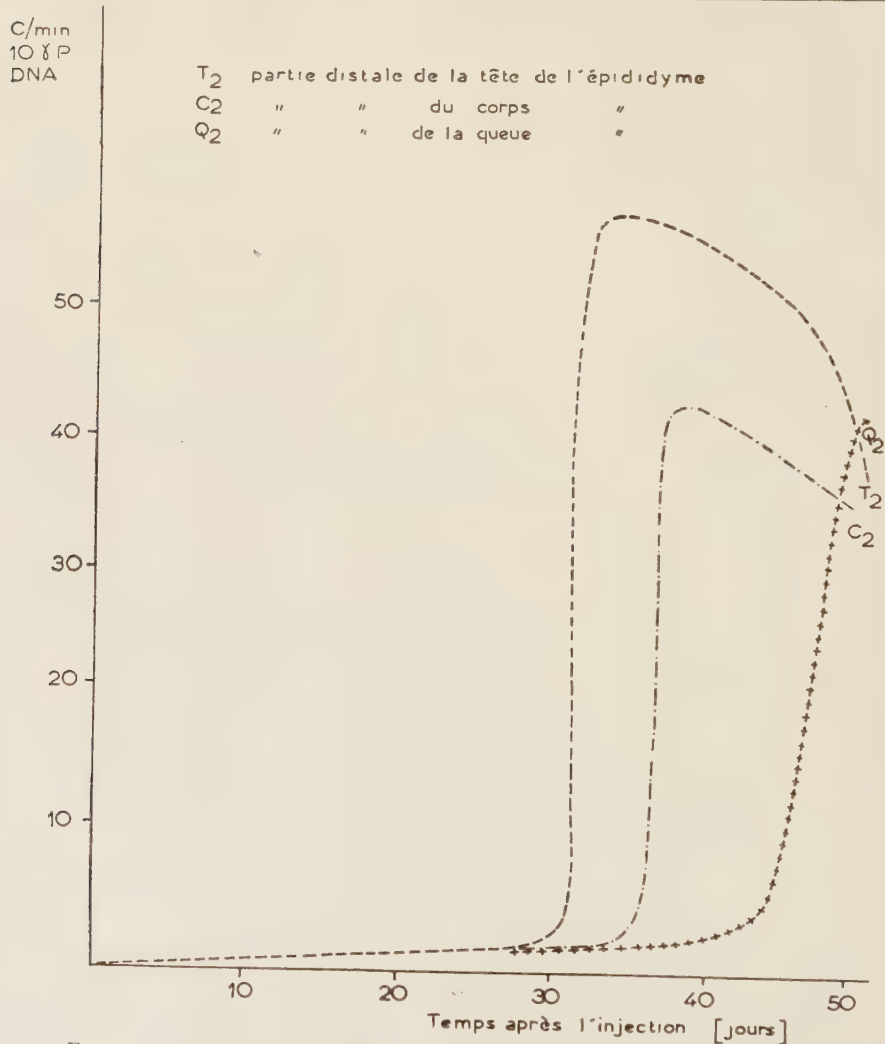


FIG. 45. — Variations de la radioactivité spécifique du DNA des spermatozoïdes des différentes parties de l'épididyme.

4^o Calcul de la durée des processus spermatogénétiques (fig. 46).

Nous avons vu que le stade ultime d'incorporation du ^{32}P dans les noyaux des cellules germinales testiculaires se situait 24 heures après l'injection au début du stade leptotène de la prophase méiotique des spermatocytes I (fin du stade 2 du cycle de l'épithélium séminifère). D'autre part, l'étude du cycle spermatogénétique nous a montré qu'il devait se dérouler $2,68 \pm 0,02$ cycles de l'épithélium séminifère avant que les spermatozoïdes provenant de ces cellules ne soient libérés dans la lumière des tubes séminifères. Or nous avons constaté que, 11 jours après l'injection, nous trouvons des spermatocytes I radioactifs au stade diplotène (vers la fin du stade 1 de l'épithélium séminifère) ; ceci signifie qu'en 10 jours, il s'est déroulé $0,93 \pm 0,03$ cycle de l'épithélium séminifère. Le même raisonnement nous montre qu'en 16 jours il s'est déroulé $1,56 \pm 0,02$ cycle de l'épithélium séminifère. Une simple règle de trois permet alors de calculer au bout de combien de jours les spermatozoïdes à acide désoxyribonucléique radioactif seront libérés dans la lumière.

Dans le premier cas, nous trouvons :

$$\frac{10 \times 2,68}{0,93} = 28,6 \pm 1,2 \text{ jours}$$

et dans le deuxième :

$$\frac{16 \times 2,68}{1,56} = 27,5 \pm 0,6 \text{ jours.}$$

Il s'écoule donc environ 28 jours avant que les *spermatozoïdes issus des spermatocytes marqués 24 heures après l'injection* ne soient libérés dans la lumière des tubes séminifères. On peut donc estimer que des spermatozoïdes à acide désoxyribonucléique radioactif seront libérés *29 jours après l'injection de P^{32}* . Or nous venons de voir qu'on recueillait toujours de tels spermatozoïdes dans la partie proximale de la tête de l'épididyme le 30-31^e jour après l'injection. Ces deux résultats concordent donc parfaitement, les spermatozoïdes ayant dû parcourir tout ou partie des tubes séminifères avant d'arriver dans la tête de l'épididyme ; or, à l'aide d'injection d'encre de Chine et à la suite d'études histologiques nous avons estimé la *durée totale* de ce trajet à environ 1 jour. Les valeurs que nous venons d'obtenir confirment cette estimation.

Nous pouvons de même calculer la durée totale du cycle spermatogénétique. Dans le 1^{er} cas, nous obtenons :

$$\frac{10 \times (4,68 \pm 1,8)}{(0,93 \pm 0,03)} = 50,1 \pm 1,8 \text{ jours}$$

et dans le 2^e :

$$\frac{16 \times (4,68 \pm 1,8)}{(1,56 \pm 0,02)} = 48,0 \pm 1,0 \text{ jours}$$

soit en moyenne 49 jours.

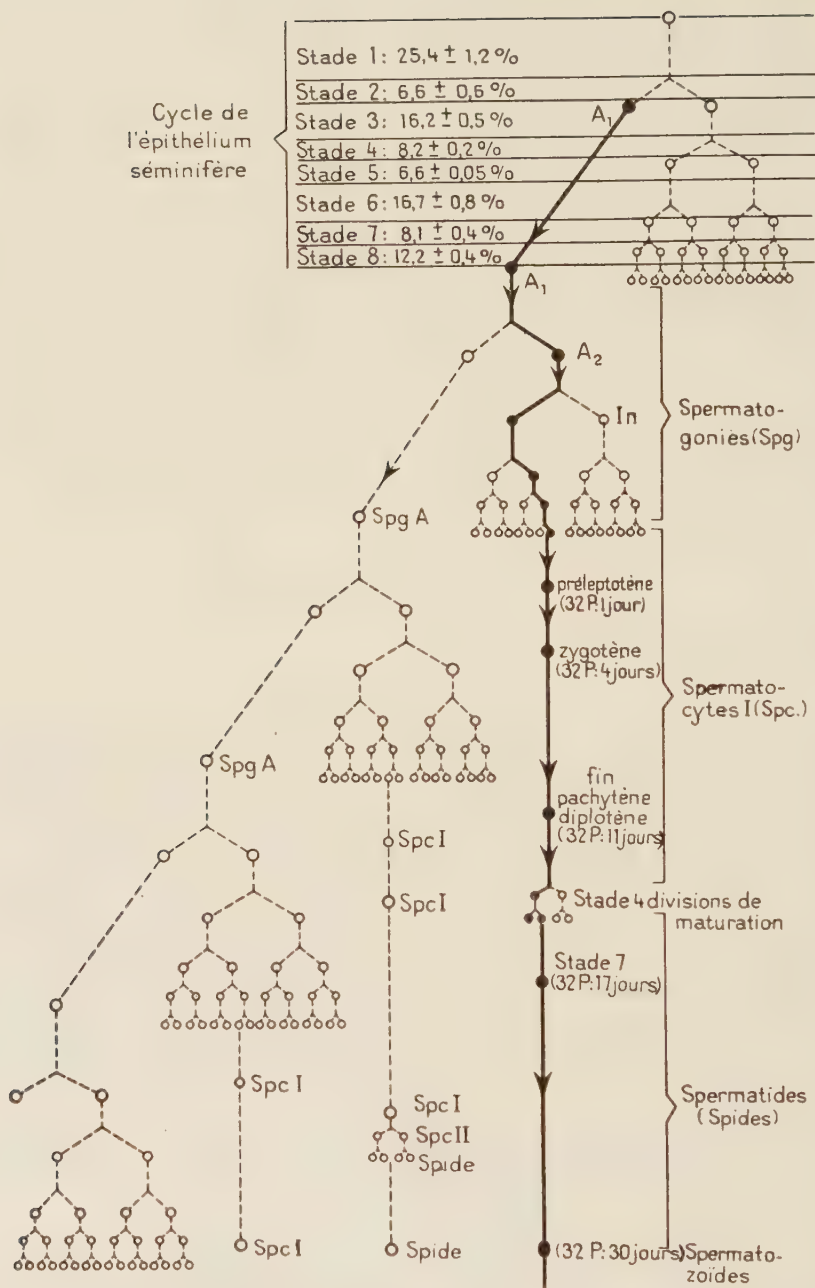


FIG. 46. — Diagramme du cycle spermatogénétique chez le bélier. Dans ce diagramme on peut suivre la progression des spermatocytes et des spermatides dont l'acide désoxyribonucléique est marqué à l'aide du ^{32}P . On observe de tels spermatocytes au stade zygotène 4 jours, au stade diplotène 11 jours après l'injection. Les spermatozoïdes ainsi marqués ne sont libérés que 29-30 jours après l'injection de ^{32}P . (*Extrait des Arch. Anat. Micros. Morph. Exp.* 45,8).

On peut facilement déduire de ces données la durée des différents processus spermatogénétiques (tableau XXX). On constate en particulier la très grande durée de la prophase méiotique (15 jours), alors que les autres stades de cette division cellulaire : métaphase, anaphase, télophase, se déroulent en quelques heures. On remarque également que la vie des spermatocytes de second ordre est extrêmement brève comparée à celle des autres cellules germinales (spermatogonies, spermatocytes de premier ordre, spermatides).

TABLEAU XXX

Durée approximative de quelques processus spermatogénétiques.

Cycle spermatogénétique	49 jours
Cycle de l'épithélium séminifère	10,4 jours
Stade 1	2,3 jours
Stade 2	1,1 jour
Stade 3	1,9 jour
Stade 4	1,1 jour
Stade 5	0,4 jour
Stade 6	1,4 jour
Stade 7	1,1 jour
Stade 8	1,1 jour
Spermatogonies A1	10 jours
Spermatogonies A2	1,5 à 2 jours
Spermatogonies In	1,5 à 2 jours
Spermatogonies B1	1 à 1,5 jour
Spermatogonies B2	1 à 1,5 jour
Spermatocytes I	15 jours
Stades preleptotène + leptotène	3 à 4 jours
Stade zygotène	1,5 à 2,5 jours
Stade pachytène	4,5 à 6 jours
Stade diplotène	2,4 à 3,5 jours
Spermatocytes II	7 à 10 heures
Spermiogénèse	14,5 à 15 jours

5^o Discussion

La valeur que nous venons d'indiquer pour la durée totale du cycle spermatogénétique concorde avec celle obtenue par la méthode indirecte. Nous pouvons donc supposer qu'elle correspond à la réalité. Elle est cependant très différente de celle avancée par la plupart des autres expérimentateurs qui ont travaillé sur la spermatogénèse des Mammifères : 20 jours (VON EBNER, 1902), 16 jours (ROOSEN-RUNGE, 1951), 24 jours (FOGG et COWING, 1953), 27 jours (SHAVER, 1953 *b*), chez le Rat ; 4 semaines (HERTWIG, 1938), 26 jours (GLUCKSMANN, HOWARD et PELC (1955) chez la Souris. Elle est cependant voisine de celle obtenue par ASDELL et SALISBURY (1940) et par KOEFED-JOHNSEN (1955) chez le Lapin. Ce dernier auteur trouve en effet à l'aide du ^{32}P que le temps nécessaire à la formation et à la maturation des spermatozoïdes de Lapin est au minimum de 40 jours. Nous sommes donc en présence d'un résultat comparable au nôtre. Examinons cependant les critiques qui peuvent être faites à cette méthode de détermination.

a) **Valeur de la technique d'extraction.** — DAVIDSON, FRAZER et HUTCHINSON (1951), DRASHER (1953), HOKIN et HOKIN (1953) ont fortement critiqué la méthode de SCHMIDT et THANNHAUSER (1945) pour la séparation de la fraction désoxyribonucléique dans un milieu radioactif. On peut donc se demander si l'augmentation de radioactivité de cette fraction à la sortie des tubes séminifères n'est pas due à une contamination. Il n'en est rien, car la radioactivité spécifique des autres fractions phosphorées (liquides de lavage, P acido-soluble, phospholipides) diminue régulièrement (tableau XXXI, fig. 44).

TABLEAU XXXI

Radioactivité spécifique du liquide de lavage et de l'acide désoxyribonucléique des spermatozoïdes de la partie proximale de la tête de l'épididyme (Coups/min/ γ P). (ORTAVANT, 1954 c).

Temps après l'injection de ^{32}P	3 h.	4 j.	7 j.	25 j.	31 j.	37 j.
Liquides de lavage.....	58	7,8	7,4	2,9	1,1	1,4
ADN.....	0	0,04	0,03	0,06	2,6	2,2

On ne peut pas en outre plus incriminer une contamination par les phosphoprotéines (JOHNSON et ALBERT, 1953) puisque leur radioactivité spécifique diminue au fur et à mesure que l'on s'éloigne du moment de l'injection de ^{32}P (HABERS et NEUMANN, 1954).

De plus, des coupes traitées à l'aide de désoxyribonucléase ⁽¹⁾ dépourvue d'activité protéolytique ne donnent plus d'autoradiographies. Ainsi, il est indéniable que le ^{32}P s'incorpore dans l'acide désoxyribonucléique des noyaux des spermatocytes.

Nos résultats sont d'ailleurs en accord avec ceux de TAYLOR (1953) et de PLAUT (1954). Ces auteurs, étudiant la formation des grains de pollen ont mis en évidence une incorporation très précise de ^{32}P dans l'acide désoxyribonucléique des noyaux des microsporocytes au stade préleptotène. Enfin, CASPERSSON (1940) a également montré que la teneur en acide désoxyribonucléique des noyaux des spermatocytes de Criquet augmente au stade leptotène, puis reste constante par la suite. Si on admet que le ^{32}P s'incorpore surtout dans l'acide désoxyribonucléique, au moment de la synthèse de celui-ci (HOWARD et PELC, 1952), les résultats de CASPERSSON concordent assez bien avec les nôtres.

Il est à remarquer que le renouvellement du ^{32}P incorporé dans ces conditions est très faible puisque, 50 jours après l'injection, les noyaux des spermatozoïdes de la queue de l'épididyme ne semblent pas montrer

⁽¹⁾ Nous remercions vivement M. A. DURAND pour nous avoir aimablement fourni de la désoxyribonucléase.

de diminution de radioactivité. Ceci confirme les résultats de HOWARD et PELC (1951) montrant que le ^{32}P incorporé dans l'acide désoxyribonucléique reste dans le noyau pendant un temps considérable et peut être transmis aux cellules filles. BENDICH (1952) avait d'ailleurs montré à l'aide de ^{14}C que la période de l'acide désoxyribonucléique des cellules du foie était de 50 jours.

b) Influence du ^{32}P sur la spermatogenèse. — Une autre critique atteint le principe même de cette détermination. Le ^{32}P n'a-t-il pas par lui-même, une action nocive sur la spermatogenèse, entraînant une modification de la vitesse des processus spermatogénétiques?

Plusieurs auteurs ont en effet rapporté que le ^{32}P injecté à des animaux provoquait des dommages considérables aux testicules.

Avec $1\mu\text{C}$ par gramme de poids vif RUSS (1950) a trouvé que la plupart des tubes séminifères de Hamster étaient endommagés et ne renfermaient plus, 30 jours après l'injection, que des cellules de Sertoli, qui, pas plus que le tissu interstitiel, ne paraissaient altérées. Avec $6\mu\text{C}$ par gramme de poids vif la stérilisation, nette après 24 heures, semblait définitive. Enfin la mort survenait inmanquablement dès le 11^e jour avec des doses de $10\mu\text{C}$ par gramme de poids vif.

Chez la Souris, les résultats de WARREN, MACMILLAN et DIXON (1950) sont comparables, bien qu'obtenus avec des doses plus élevées. Injectant $250\mu\text{C}$ par animal, ces auteurs obtiennent un arrêt des multiplications goniales, mais les spermatocytes et les spermatides semblent se développer normalement dans la plupart des tubes et, vers le 50^e jour, il y a réapparition des multiplications goniales ; la stérilisation n'est donc pas complète. L'action stérilisante du rayonnement β du phosphore radioactif sur la spermatogenèse semble être moins puissante que celle des neutrons (NEARY, MUNSON et MOLE, 1950) mais est absolument comparable à celle des rayons X (BERGONIE et TRIBONDEAU, 1904 *a* et *b* ; REGAUD et BLANC, 1906 ; REGAUD et DUBREUIL, 1908 ; REGAUD, 1910 ; FERROUX, REGAUD et SAMSONOW, 1938 ; HERTWIG, 1938 ; FOGG et COWING, 1952 *a* et *b* et 1953 · SHAVER, 1953 *a* et *b*). Or il est *extrêmement important de noter que SHAVER a montré que la maturation des cellules germinales autres que les spermatogonies se poursuit, après stérilisation aux rayons X, à la vitesse normale.*

Chez le Bélier, nous avons une sensibilité beaucoup plus importante au ^{32}P que celle constatée chez le Hamster et la Souris. En effet, la mort intervient toujours entre la 3^e et la 4^e semaine après l'injection de doses de 1 mC par kilogramme de poids vif, doses 10 fois et 100 fois moins fortes que celles nécessaires pour provoquer la mort chez le Hamster et la Souris. Sur le testicule, les effets observés ont été comparables à ceux déjà rapportés par SHAVER (1953 *a* et *b*) avec les rayons X, mais cela uniquement avec les fortes doses. Avec des doses faibles ($1,5$ à 3 mC par animal) les effets enregistrés ont été presque nuls (tableau XXXII).

TABLEAU XXXII

*Influence du ^{32}P sur la spermatogénèse.
Nombre de cellules germinales par section orthogonale
de tube séminifère (10μ)*

Dose	Temps après l'injection	Spermatocytes 1				Spermatides	
		leptotène	début pachytène	fin pachytène	diplotène	Stades 6 — 7	Stade 1
3 mC.....	3 heures	54,0	54,2	69,3	62,1	185,5	193,2
3 mC.....	15 jours	31,9	30,0	34,3	38,8	144,0	201,0
3 mC.....	31 jours	39,9	39,3	43,0	44,6	123,3	166,4
1,5 mC.....	37 jours	62,3	58,8	65,8	67,2	194,9	186,2
50 mC.....	2 jours	54,0	54,8	48,3	57,0	144,5	140,0
50 mC.....	17 jours	4,2	14,2	38,6	57,0	171,1	180,0

Avec des doses de l'ordre de 1 mC par kilogramme de poids vif, il y a arrêt des multiplications spermatogoniales, mais les spermatocytes primaires déjà formés dans les 48 heures qui suivent l'injection continuent à se développer normalement. Nous trouvons en effet exactement la même vitesse spermatogénétique avec de fortes doses (autoradiographies) qu'avec de faibles doses (fractionnement biochimique des spermatozoïdes). De plus les valeurs obtenues pour la durée du cycle spermatogénétique coïncident avec celles calculées à l'aide de la méthode indirecte où nous n'introduisons aucun facteur de trouble.

En conclusion, nous pouvons donc affirmer que la durée du cycle spermatogénétique chez le Bélier est de 49 jours environ.

D'autre part l'étude faite à l'aide du ^{32}P suggère que, lorsqu'un facteur trouble la spermatogénèse, les cellules qui parviennent à poursuivre leur développement le font à la vitesse normale. Il semble donc que nous soyons en présence d'une véritable constante biologique et il serait important de savoir si, sous l'influence d'autres facteurs externes modifiant l'activité spermatogénétique, la durée du cycle spermatogénétique reste inchangée.

IV. — INFLUENCE DE LA DURÉE D'ÉCLAIREMENT SUR LA SPERMATOGENÈSE. — CONSTANCE DE LA DURÉE DU CYCLE SPERMATOGENÉTIQUE

Parmi les facteurs externes qui influent sur la spermatogénèse, la durée quotidienne d'éclairement est certainement celui qui s'est révélé le plus spectaculaire et le plus efficace.

Si, en effet, quelques expériences n'ont pas mis en évidence une modification de la spermatogénèse à la suite de changements lumineux (DEMPSEY, MYERS, YOUNG et JENNISON, 1934 ; MAQSOOD et PARSONS, 1954 ;

ANTHONY, 1953), de très nombreux travaux ont montré l'influence de la lumière sur les testicules des Oiseaux et des Mammifères.

ROWAN (1925) fut le premier chercheur à étudier rationnellement l'influence de la lumière sur les gonades du junco ; mais il conclut que l'éclairement ne stimulait les fonctions testiculaires qu'indirectement, une veille prolongée favorisant une augmentation de l'exercice musculaire et du métabolisme. Le mérite revient à BISSONNETTE d'avoir le premier montré, d'une façon indéniable, l'influence spécifique de la lumière sur le mécanisme gonado-stimulant de l'Étourneau d'abord (1931 *a, b*), du Furet ensuite (1932). Il trouva que l'exercice ou la veille ne modifiaient que légèrement la réponse testiculaire à la lumière.

Ces résultats furent confirmés sur de très nombreux animaux (Oiseaux ou Mammifères) et en particulier par MARSHALL et BOWDEN (1934, 1936), chez le Furet, KIRSCHBAUM (1933) et KIRSCHBAUM et RINGOEN (1936) chez le Moineau domestique, BENOIT (1936) chez le Canard, WHITAKER (1940) chez la Souris américaine, LAMOREAUX (1943), PARKER et SPADDEN (1943), BONNADONNA et POZZI (1955) chez le Coq, NISCHIKAWA et HORIE (1952) chez l'Étalon.

BAKER et RANSON (1932), BISSONNETTE (1935) constatèrent les uns chez la Souris des champs et l'autre chez le Furet, qu'une diminution de la durée d'exposition à la lumière entraînait une régression de l'activité testiculaire ; de même il a été trouvé que l'obscurité totale provoquait une très forte diminution du poids des testicules chez le Rat (FISKE, 1941 ; MEYER et MEYER, 1944). Certains auteurs ont même remarqué qu'une forte ration lumineuse pouvait suppléer, dans certains cas, une alimentation défectueuse (ALEXANDER et FRAZER, 1952).

Cependant, comme chez les plantes, certains animaux réagissent favorablement à une diminution de la durée d'éclairement, tels les Caprins (BISSONNETTE, 1941) ou les Ovins (YEATES, 1949). La production spermatique du Bélier est soumise en effet à des variations saisonnières importantes (MACKENZIE et BERLINER, 1937 ; GREEN, 1940 ; CHANG, 1941 ; GUNN, SANDERS et GRANGER, 1942 ; PHILLIPS, SCHOTT, EATON et SIMMONS, 1943 ; BOGART et MAYER, 1946 ; STARKES, 1949 ; VOLCANI, 1953 ; HAFEZ, BADRELDIN et DARWISH, 1955) dont la période défavorable se situe au printemps ou en été. Nous avons nous-mêmes constaté une diminution importante de l'efficacité de la spermatogenèse chez les Béliers Ile-de-France que nous avons utilisés de mars à juin, variations que nous rappelons dans le tableau XXXIII.

On peut donc se demander si, pour cet animal, le facteur de diminution d'efficacité spermatogénétique n'est pas l'augmentation de la longueur du jour au printemps. YEATES (1949), premier auteur à émettre cette hypothèse, a effectivement obtenu une amélioration de la qualité et de la quantité des spermatozoïdes récoltés chez 3 Béliers soumis à des éclaire-

TABLEAU XXXIII

Influence des variations saisonnières sur l'activité spermatogénétique des Béliers Ile-de-France.

Saison	Poids d'un testicule (g)	Nombre testiculaire (10 ⁸)	Coefficient testiculaire (10 ⁸ / g)	Réserves de la queue de l'épididyme (10 ⁹)	Nombre de données
Sept. - Déc. (Inclus)	223 ± 11	237 ± 14	1,05 ± 0,04	63,1 ± 5,1	36
Mars - Juin (Inclus)	243 ± 15 P = 0,27	196 ± 15 P = 0,05	0,80 ± 0,04 P < 0,01	36,5 ± 5,9 P < 0,01	23

ments progressivement décroissants. De même, MOULE (1950) a décrit une amélioration de la libido chez des béliers Mérinos australiens mis à l'obscurité pendant une partie de l'après-midi. Mais l'effet inhibiteur d'une photopériode longue a été démontré d'une façon indiscutable par ORTAVANT et THIBAUT (1954, 1956 *a* et *b*) : des Béliers de même développement corporel, recevant la même alimentation, mais soumis à des régimes lumineux dissemblables, possèdent des différences d'activité très nettes (tableau XXXIV).

TABLEAU XXXIV

Influence de la durée d'éclairement sur la production de spermatozoïdes de Béliers Ile-de-France (ORTAVANT et THIBAUT, 1956 a).

Mode d'éclairement	Poids moyen de la carcasse (kg.)	Poids moyen d'un testicule (g.)	Nombre testiculaire (10 ⁹ spermatozoïdes)	Réserves épididymaires 10 ⁹ spz (1 épididyme)	Nombre de Béliers
(Jours courts 8 h 10)	49,4 ± 1,8	285,3 ± 8,8	24,8 ± 0,8	62,5 ± 5,0	18
(Jours longs 16 h 08)	47,5 ± 1,4	224,6 ± 6,6	17,7 ± 0,7	48,1 ± 2,9	18

Le poids des testicules, les réserves spermatiques, sont beaucoup plus grands chez les animaux qui ont été soumis à une faible durée quotidienne d'éclairement.

L'évolution des réserves spermatiques suit d'ailleurs d'une façon très précise les variations de la durée d'éclairement. Lorsque celle-ci augmente, les réserves spermatiques épididymaires diminuent et inversement. Il est évident d'ailleurs que les variations de ces réserves spermatiques s'effectuent avec un certain décalage nécessité comme nous l'avons vu précédemment, par l'accomplissement des processus spermatogénétiques et le transfert des spermatozoïdes le long du canal épididymaire (tableau XXXV et graphique de la fig. 47).

L'analyse histologique montre que ces effets nocifs de l'augmentation de la durée d'éclairement sur la production spermatique du Bélier prennent naissance par la dégénérescence d'un certain nombre de cel-

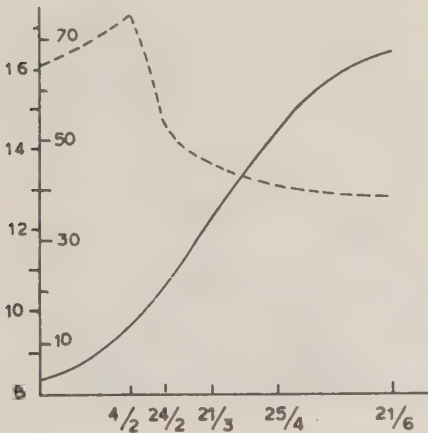
TABLEAU XXXV

Évolution des réserves spermatiques épididymaires en fonction de la durée quotidienne d'éclairement (ORTAVANT et THIBAUT, 1956 a).

Date	Durée d'éclairement		Réserves épididymaires (10^9 spz)		Nombre d'animaux dans chaque lot
	Lot I	Lot II	Lot I	Lot II	
7-15/12/53.....	8 h 10 mn	8 h 10 mn	64,2	64,2	3
3-5/2/54.....	9 h 35 mn	12 h 40 mn	73,6	53,9	3
22-25/3/54.....	10 h 35 mn	14 h 30 mn	51,2	41,6	3
17-23/3/54.....	12 h 05 mn	16 h 08 mn	45,0	34,2	3
23-30/4/54.....	14 h 20 mn	13 h 40 mn	41,7	25,5	3
18-25/6/54.....	16 h 08 mn	8 h 10 mn	36,9	63,9	3

lules germinales, dégénérescence qui affecte au total plus de 40 p. 100 de celles-ci. C'est ainsi qu'une spermatogonie A au lieu de produire 64 spermatides, n'en donne plus qu'environ 40 lorsque le Bélier a été soumis à des jours longs. Les stades critiques où se manifeste cette diminution

10g. Spz



10g Spz

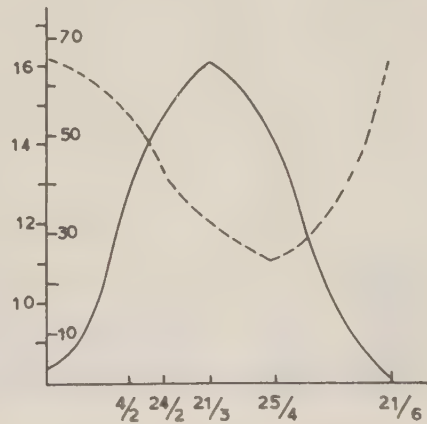


FIG. 47. — Influence de la durée d'éclairement sur les réserves spermatiques du Bélier. (ORTAVANT et THIBAUT, 1956 a).
— durée quotidienne d'éclairement
--- réserves spermatiques

d'efficacité des processus spermatogénétiques sont la production des spermatogonies intermédiaires, la transformation des spermatocytes de premier ordre du stade zygotène au stade pachytène et enfin les divisions méiotiques (ORTAVANT, 1956 b). Les résultats sont représentés dans le tableau XXXVI et dans les figures 48 à 51.

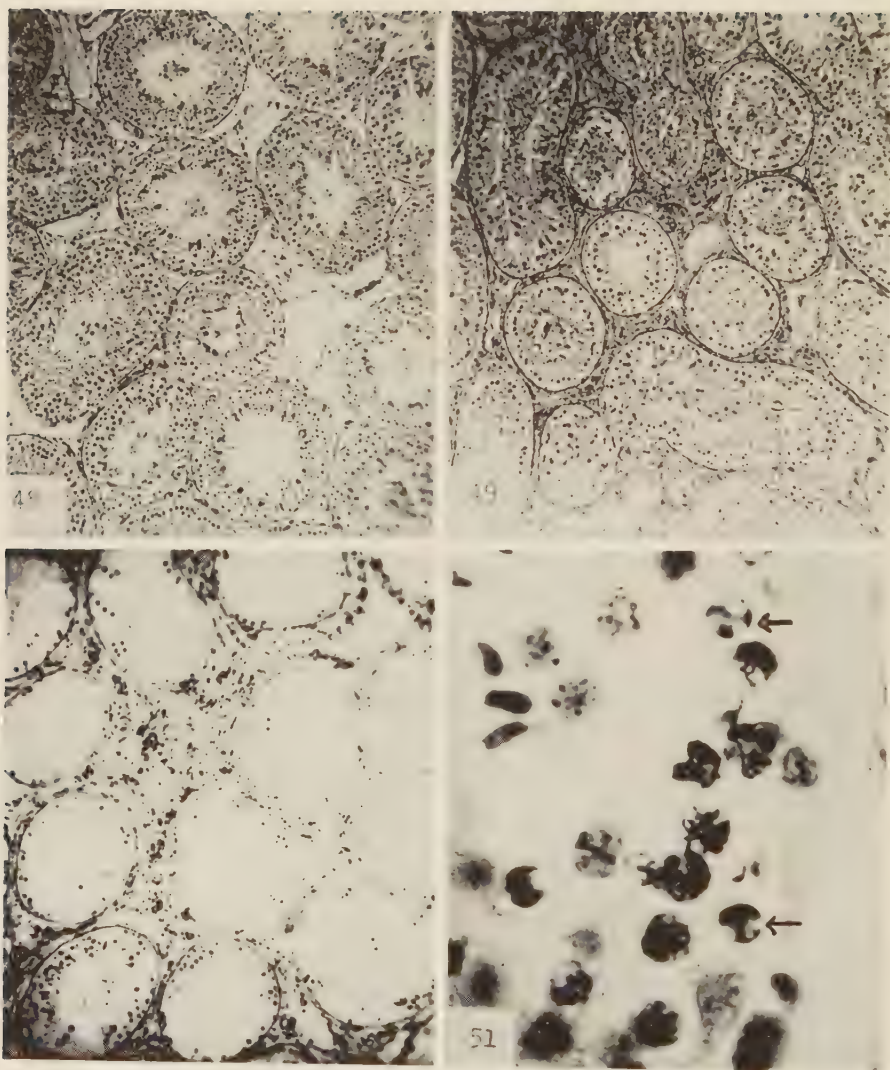


FIG. 48. — Tubes séminifères de Bélier soumis à des jours courts (8 heures 10) ($\times 70$).

FIG. 49. — Tubes séminifères de Bélier soumis à des jours longs (16 heures) ($\times 70$).

FIG. 50. — Tubes séminifères de Bélier soumis à une action prolongée des longs éclairéments
(1 mois, 16 heures) ($\times 70$).

FIG. 51. — Pycnose des noyaux des spermatocytes de 1^{er} ordre dans un tube séminifère de Bélier soumis
à des jours longs (stade 4) ($\times 1150$).

Ainsi, il est certain que l'augmentation de la durée quotidienne d'éclairement affecte très fortement la spermatogenèse chez le Bélier. Il est intéressant, donc, d'examiner si, dans ce cas, la durée du cycle spermatogénétique est troublée ou non. Nous constatons que, contrairement

TABLEAU XXXVI

Influence de la durée quotidienne d'éclairement sur l'épithélium séminifère de Béliers : nombre de cellules germinales par coupe transversale de tube séminifère (10 μ) (ORTAVANT 1956 b).

Cellules germinales	Béliers à jours courts		Béliers à jours longs		Diminution (%)
	Nombre de cellules par tube	Nbre de tubes	Nombre de cellules par tube	Nbre de tubes	
Spermatogonies A	2,14 $\pm$ 0,06	735	1,90 $\pm$ 0,06	340	11,2 $\pm$ 5,6
Spermatogonies In.	5,55 $\pm$ 0,13	169	4,27 $\pm$ 0,18	60	23,1 $\pm$ 5,5
Spermatogonies B 2	18,69 $\pm$ 0,52	97	14,02 $\pm$ 0,44	84	24,9 $\pm$ 5,1
Spermatocytes I (leptotène).	37,74 $\pm$ 0,92	121	28,18 $\pm$ 0,96	71	25,3 $\pm$ 4,9
Spermatocytes I (zygotène).	35,87 $\pm$ 0,46	474	27,65 $\pm$ 0,47	418	22,9 $\pm$ 2,6
Spermatocytes I (pachytène).	39,05 $\pm$ 0,76	155	24,85 $\pm$ 0,98	64	36,3 $\pm$ 4,4
Spermatocytes I (diplotène).	37,48 $\pm$ 1,04	110	25,20 $\pm$ 0,89	71	32,7 $\pm$ 5,1
Spermatides	159,6 $\pm$ 7,5	28	85,5 $\pm$ 4,7	48	43,5 $\pm$ 7,6
Spermatides	142,7 $\pm$ 4,5	47	76,7 $\pm$ 5,2	53	43,7 $\pm$ 6,7

à ce qu'on pourrait penser, les processus spermatogénétiques ne subissent aucun ralentissement pour les cellules qui franchissent les stades critiques que nous avons indiqués. En effet, chez des animaux ayant reçu une injection de ^{32}P , les spermatozoïdes à noyau radioactif arrivent en même temps dans la tête de l'épididyme, quel que soit le mode d'éclairement (ORTAVANT, 1956 b) (tableau XXXVII).

TABLEAU XXXVII

Apparition de l'acide désoxyribonucléique radioactif dans les spermatozoïdes de la tête de l'épididyme (ORTAVANT, 1956 b).

Mode d'éclairement	Jours après l'injection	Coups/min./10 γ Phosphore		
		Tête épидидyme		Queue épидидyme
		proximale	distale	
Jours courts	29 ^e	0	0	0
	31 ^e	0	0	0
	31 ^e	19	9	0
	32 ^e	24	115	0
Jours longs	29 ^e	0	0	0
	31 ^e	0	0	0
	31 ^e	13	0	0
	32 ^e	61	30	0

La durée relative d'éclairement joue donc un rôle essentiel dans l'activité testiculaire du Bélier : la production spermatogénétique est significativement réduite quand l'animal est placé en photopériode longue.

Diagramme du cycle spermatogénétique

le Bélier à jours courts

le Bélier à jours longs

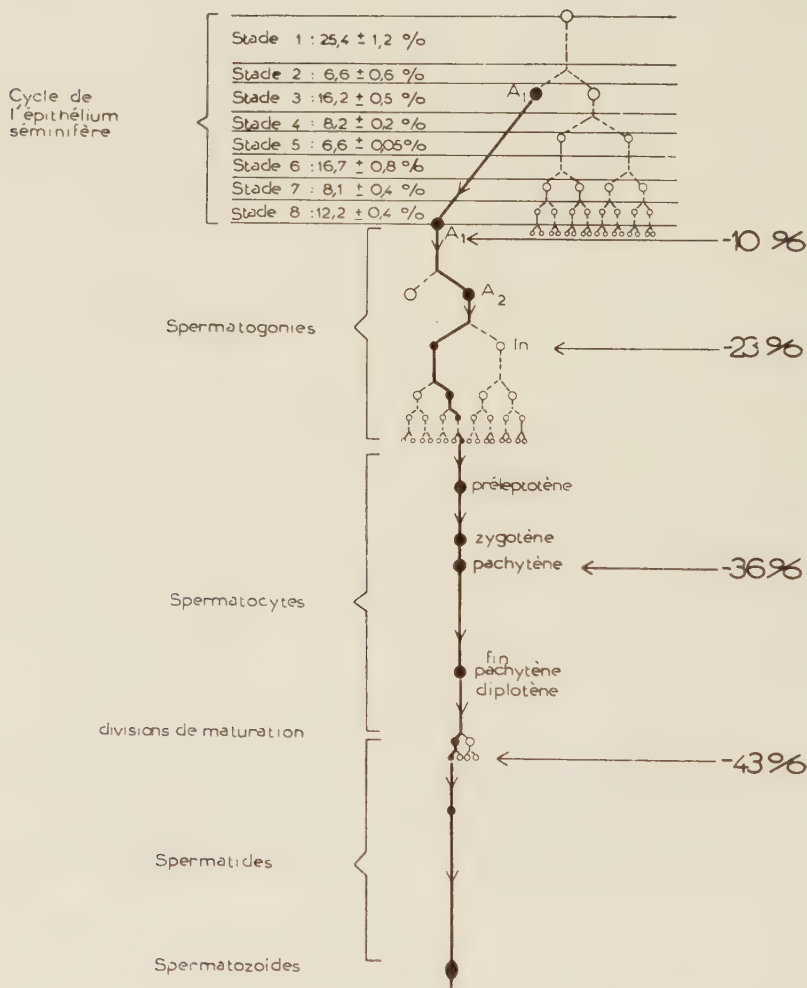


FIG. 52. — Influence de la durée d'éclairement sur l'épithélium séminifère.

Mais, bien que des cellules, qui auraient normalement dû donner des spermatozoïdes, dégénèrent à certains stades critiques, celles qui poursuivent une évolution complète effectuent celle-ci à une vitesse absolument normale.

Ainsi les facteurs qui diminuent la production testiculaire : rayons X, rayonnement du ^{32}P , action des éclaircissements longs, sont sans effet sur la vitesse de déroulement de chacune des étapes de la spermatogenèse. On peut donc *considérer la durée du cycle spermatogénétique comme une constante biologique, l'une des plus rigides qui soit, puisqu'elle ne semble pas connaître de variations individuelles.*

CONCLUSIONS DE LA DEUXIÈME PARTIE

La rigidité avec laquelle se déroule le cycle de l'épithélium séminifère nous a conduit à l'idée de constance de la durée de chacun des processus spermatogénétiques, donc de la durée totale du cycle spermatogénétique. Chez le Bélier, aucune estimation de cette durée n'ayant été publiée, nous avons donc recherché, par des méthodes directes ou indirectes, à la déterminer.

1° La connaissance de la production, par unité de temps, d'une catégorie de cellules germinales, dont on connaît les proportions par rapport à l'ensemble des autres cellules germinales, permet de déterminer, par un raisonnement simple, la durée du cycle spermatogénétique.

La détermination de la production quotidienne de spermatozoïdes à l'aide de collectes de sperme nécessite une connaissance exacte des réserves épидидymaires ($80,36 \pm 6,41 \cdot 10^9$ spermatozoïdes par épидидyme en saison sexuelle). En effet, des collectes fréquentes de sperme entraînent une diminution des réserves spermatiques de la queue de l'épидидyme (30 p. 100 dans nos conditions expérimentales) : la quantité totale de spermatozoïdes récoltés en un temps donné est donc supérieure à la production réelle pendant le même temps. Tenant compte de ce fait, nous avons pu calculer qu'un testicule de Bélier moyen produit $2,60 \cdot 10^9$ spermatozoïdes par jour. Sachant que la quantité totale de spermatides à noyau allongé est égale à $20,6 \cdot 10^9$ par testicule, on peut en déduire que cette fraction de la spermiogenèse se déroule en 7,9 jours. Il est alors facile de calculer que la durée totale du cycle spermatogénétique est égale à 47,2 jours. Malheureusement, cette méthode fait intervenir trop de variables pour que l'on puisse être assuré de sa précision. Il est donc nécessaire de confirmer ce résultat.

2° En nous basant sur des recherches relatives à la synthèse de l'acide désoxyribonucléique dans les noyaux des cellules germinales, nous avons pu constater que l'injection de ^{32}P à des Béliers permettait de marquer électivement les noyaux des spermatocytes au stade préleptotène : aucun noyau radioactif postérieur à ce stade n'est détectable 24 heures après l'injection. Il y a constitution d'un véritable front de radioactivité : 4 jours après l'injection, ce front de radioactivité englobe les spermatocytes

au stade zygotène, puis les spermatocytes au stade pachytène (11 jours), et les jeunes spermatides (17 jours). Les spermatozoïdes radioactifs ne sont libérés dans la lumière des tubes séminifères que 29-30 jours après l'injection de ^{32}P . Nous avons ainsi pu calculer que la durée totale du cycle spermatogénétique est égale à 49 jours, chiffre très voisin de celui obtenu à l'aide de la première méthode.

3° Ayant trouvé que l'allongement de la durée d'éclairement provoque une diminution importante de l'activité spermatogénétique chez le Bélier, nous avons pu, en utilisant le ^{32}P sur des Béliers soumis à des conditions expérimentales d'éclairement très différentes, constater que la durée du cycle spermatogénétique ne variait pas, même dans le cas d'une dégénérescence cellulaire intense.

Cette constance dans les résultats, quelle que soit la méthode employée, nous permet de conclure que la durée du cycle spermatogénétique est une constante biologique, l'une des plus invariables qui soit, puisque ni l'action néfaste du ^{32}P , ni l'allongement de la durée journalière d'éclairement, ne la perturbent.

La durée à laquelle nous arrivons pour le Bélier est beaucoup plus longue que celles généralement admises pour d'autres Mammifères. On peut cependant penser que les méthodes qui furent employées ne sont pas exemptes de critiques : chez le Rat, en effet, les estimations varient de 16 à 27 jours selon les auteurs, alors que l'organisation de l'épithélium séminifère est aussi précise et aussi rigide que chez le Bélier.

La durée de la spermatogenèse étant connue et fixe, il en résulte d'importantes possibilités d'expérimentation dans l'étude des facteurs externes et des méthodes d'élevage sur la production spermatogénétique des mâles domestiques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABERCROMBIE (M.). — Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.*, **94**, 238-248, 1946.
- ALEXANDER (D. P.), FRAZER (J. F. D.). — Some aspects of male fertility in the rodent. *Proceed. Soc. Study Fert.*, **5**, 55, 1953.
- ALLEN (E.). — Studies on cell division in the albino Rat. III. Spermatogenesis : the origin on the first spermatocytes and the organisation of the chromosomes, including the accessory. *J. Morph.*, **31**, 133-174, 1918.
- ALLEN (R. J. L.). — The estimation of phosphorus. *Bioch. J.*, **34**, 858-865, 1940.
- ALMQUIST (J. O.), HALE (E. B.). — An approach to the measurement of sexual behaviour and semen production of dairy Bulls. *IIIrd Int. Cong. Phys. Path. Anim. Reprod. and Art. Ins.* (Cambridge), plenary papers, 50-59, 1956.
- ANDERSON (J.). — The semen of animals and its use for artificial insemination. Edinburgh : *Imperial Bureau of Anim. Genetics*, 1 vol. 151 pp., 1945.
- ANTHONY (A.). — Seasonal reproductive cycle in the normal and experimentally treated male prairie Dog, *Cynomys ludovicianus*. *J. Morph.*, **93**, 361-369, 1953.
- ASDELL (S. A.), SALISBURY (G. W.). — The rate at which spermatogenesis occurs in the Rabbit. *Anat. Rec.*, **80**, 145-153, 1941.
- ATKINSON (W. B.). — Differentiation of nucleic acids and acid mucopolysaccharides in histologic sections by selective extraction with acids. *Science*, **116**, 303-304, 1952.
- AUSTIN (C. R.), SAPSFORD (C. S.). — The development of the Rat spermatid. *J. Roy. Micr. Soc.*, **71**, 397-406, 1951.
- BAKER (J. R.), RANSON (R. M.). — Factors affecting the breeding of the field Mouse (*Microtus agrestis*). I. Light. *Proc. Roy. Soc., London B*, **110**, 313-322, 1932.
- BANGS (C. L.), UNDERWOOD (E. J.). — A comparison of methods of estimating sperm concentration in Ram's semen. *Aust. Veter. J.*, **24**, 89-93, 1948.
- BATELLI (F.). — Une méthode pour obtenir l'émission complète du liquide des vésicules séminales chez le Cobaye. *C. R. Soc. Phys. Hist. Nat., Genève*, **39**, 73, 1922.
- BENDA (C.). — Untersuchungen über den Bau des funktionierenden Samenkanälchens einiger Säugetiere und Folgerungen für Spermatogenese dieser Werbelthierklasse. *Arch. Mikr. Anat. Entwickl.*, **30**, 49-110, 1887.
- BENDA (C.). — Neue Mittheilungen über die Entwicklung der Genitaldrüsen und über die Metamorphose der Samenzellen. *Arch. Anat. Physiol. Phys. Abth.*, 549-552, 1891.
- BENDICH (A.). — Studies on the metabolism of the nucleic acids. *Exptl. Cell Res., Supp.*, **2**, 182-199, 1952.
- BENGTSOON (L. P.). — Spermaresorption hos kaniner Ett preliminar meddelande. *Kgl. Fysiogr. Sallsk. Lund. Forhdlg.*, **19**, 1-3, 1949.
- BENHAM (T. A.), ENDERS (R. K.). — An improved stimulator for obtaining semen from small Mammals. *N. Amer. Veter.*, **22**, 300-301, 1941.
- BENOIT (J.). — Recherches anatomiques, cytologiques et histophysiologiques sur les voies excrétrices du testicule chez les Mammifères. *Trav. Inst. Histol.*, Strasbourg, 232 pp., 1925.
- BENOIT (J.). — Facteurs externes et internes de l'activité sexuelle. I. Stimulation par la lumière de l'activité sexuelle chez le Canard et la Cane domestique. *Bull. Biol.*, **70**, 487-533, 1936.
- BERGONIE (J.), TRIBONDEAU (L.). — Action des rayons X sur le testicule du Rat blanc. *C. R. Soc. Biol.*, **56** (2), 400-402, 1904 a.

- BERGONIE (J.), TIRBONDEAU (L.). — Action des rayons X sur le testicule du Rat blanc. *C. R. Soc. Biol.*, **56** (2), 592-595, 1904 b.
- BIRILLO (I. M.), PUHALSKII (L. H.). — Problèmes de conservation prolongée du sperme de Taureau et de Bélier. *Probl. Životn.*, **10**, 24-40, 1936. (*Anim. Breed. Abst.*, **5**, 219-220, 1937).
- BISHOP (D. W.). — The metabolic machinery of sperm activity. Dans « Studies on testis and ovary, eggs and sperm ». E. T. Engle, **95**, 122, 1952.
- BISHOP (D. W.), WEINSTOCK (I.). — Uptake of radioactive phosphorus by Bull spermatozoa. *Anat. Rec.*, **101**, 81, 1948.
- BISSENETTE (T. H.). — Studies on the sexual cycle in Birds. IV. Experimental modification of the sexual cycle in male of the european Starling (*Sturnus vulgaris*) by changes in the daily period of illumination and muscular work. *J. Exp. Zool.*, **58**, 281-314, 1931 a.
- BISSENETTE (T. H.). — Studies on the sexual cycle in Birds. V. Effects of light of different intensities upon the testis activity of the european Starling (*Sturnus vulgaris*). *Physiol. Zool.*, **4**, 542-574, 1931 b.
- BISSENETTE (T. H.). — Modification of Mammalian sexual cycles reactions of ferrets of both sexes to electric light added after dark in November and December. *Proc. Roy. Soc.*, London B, **110**, 322-366, 1932.
- BISSENETTE (T. H.). — Modification of Mammalian sexual cycles. III. Reversal of the cycle in male Ferrets (*Putorius vulgaris*) by increasing periods of exposure to light between October 2d and March 30th. *J. Exp. Zool.*, **71**, 341-367, 1935.
- BISSENETTE (T. H.). — Experimental modification of breeding cycle in Goats. *Physiol. Zool.*, **14**, 379-383, 1941.
- BISSENETTE (T. H.), WADLUND (A. P. R.). — Spermatogenesis in *Sturnus vulgaris* : refractory period and acceleration in relation to wave length and rate of increase of light ration. *J. Morph.*, **52**, 403-427, 1931.
- BLACKSHAW (A. W.), EMMENS (C. W.). — The interaction of pH, osmotic pressure and electrolyte concentration on the motility of Ram, Bull and Human spermatozoa. *J. Physiol.*, **114**, 16-27, 1951.
- BOGART (R.), MAYER (D. T.). — Environmental temperature and thyroid gland involvement in lowered fertility of rams. *Mo. Agric. Exp. Stat. Res. Bull.*, **402**, 43 pp, 1946.
- BONADONNA (T.). — Il metodo dell'elettroeiaculazione negli Ovini e nei Caprini (Prima nota). *Fec. art. Anim. domest.*, **1**, 70-79, 1938.
- BONADONNA (T.). — Nozioni di tecnica della fecondazione artificiale degli animali. I. — Istituto Editor Cisalpino. Milano, p. 315-333, 1948.
- BONADONNA (T.), POZZI (G. C.). — Osservazioni sull'azione del fattore luce nei riguardi della produzione spermatica nel « *Gallus gallus* ». *Zootec. Veter.*, **10**, 43-61, 1955.
- BORDET. — Electroéjaculation chez le Cobaye. — *Thèse Doct. Méd. Vét.* (Toulouse), 1941.
- BOYD (G. A.). — Autoradiography in biology and medicine. *Academic Press*, N. Y., 339 pp., 1955.
- BOYD (G. A.), LEVI (H.). — Carbon 14 β -track autoradiography. *Science*, **111**, 68-69, 1950.
- BRADY (D. E.), GILDOW (E. M.). — Characteristics of Ram semen as influenced by the method of collection. *Proc. Amer. Soc. Anim. Prod.*, 32nd Ann. Meet., 250-254, 1939.
- BRANCA (A.). — Les canalicules testiculaires et la spermatogenèse de l'Homme. *Arch. Zool. Exp. Gen.*, **62**, 53-252, 1924.
- BROCHART (M.). — Augmentation de la durée de conservation du sperme de Taureau par dilution progressive en milieu hypotonique. *Rec. Med. Veter.*, **127**, 153-160, 1951.
- BROWN (H. H.). — On spermatogenesis in the Rat. *Quart. J. Micr. Sci.*, **25**, 343-370, 1885.

- BUCHMAN (E. G.). — O morfologii epididimisa. *Dokl. Akad. Seljskohoz Nauk.*, **516**, 31-36, 1939. (*Anim. Breed. Abst.*, **8**, 140).
- CASPERSSON (T.). — Die eiweiss Verteilung in der Strukturen des Zellkerns. *Chromosoma*, **1**, 562-604, 1940.
- CASPERSSON (T.). — Nukleinsäureketten und Genvermehrung. *Chromosoma*, **1**, 605-619, 1940.
- CHALLICE (C. H.). — Electron microscope studies of spermiogenesis in some Rodents. *J. Roy. Micr. Soc.*, **73**, 115-127, 1953.
- CHANG (M. C.). — A study of the physiology of Ram spermatozoa. *Thesis Ph. D. School Agric. Univ., Cambridge*, 1941 (Communication personnelle).
- CHANG (M. C.). — The sperm production of adult Rams in relation to frequency of semen collection. *J. Agric. Sci.*, **35**, 243-246, 1945.
- CLELAND (K. W.). — The spermatogenic cycle of the Guinea Pig. *Austr. J. Sci. Res.*, B, **4**, 344-369, 1951.
- CLERMONT (Y.). — Histology of the seminiferous epithelium of the Rat, Hamster and Monkey. *Doctorate Thesis*. Mc Gill Univ., Montreal (Canada), 1953.
- CLERMONT (Y.). — Cycle de l'épithélium séminal et mode de renouvellement des spermatogonies chez le Hamster. *Rev. Canad. Biol.*, **13**, 208-245, 1954.
- CLERMONT (Y.), CLEGG (R. E.), LEBLOND (C. P.). — Presence of carbohydrates in the acrosome of the Guinea Pig spermatozoon. *Exptl. Cell. Res.*, **8**, 453-458, 1955.
- CLERMONT (Y.), LEBLOND (C. P.). — Rôle des polysaccharides dans la formation et le sort des spermatozoïdes. *Ext. Annales Acfas*, **16**, 103-105, 1950.
- CLERMONT (Y.), LEBLOND (C. P.). — Renewal of spermatogonia in the Rat. *Amer. J. Anat.*, **93**, 475-502, 1953.
- CLERMONT (Y.), LEBLOND (C. P.). — Spermiogenesis of Man, Monkey, Ram and other Mammals as shown by the « periodic acid schiff » technique. *Amer. J. Anat.*, **96**, 229-253, 1955.
- CLERMONT (Y.), LEBLOND (C. P.), EINBERG, (cité par CLERMONT Y. et LEBLOND C. P.). *Amer. J. Anat.*, **96**, 229-253, 1955.
- COLLERY (L.). — The electrical production of semen in the Guinea Pig and the characters of the ejaculate. *Proc. R. Irish. Acad.*, B, **50**, 1-14, 1944. (*Anim. Breed. Abst.*, **13**, 46).
- COMSTOCK (R. E.), GREEN (W. W.), WINTERS (L. M.), NORDSKOG (A. W.). — Studies of semen and semen production. *Tech. Bull. Minn. Agric. Exp. Sta.*, **162**, 55 pp., 1943.
- COX (C. P.), MELROSE (D. R.). — The calibration of a photoelectric absorptiometer for the rapid estimation of counts of spermatozoa in Bull semen. *J. Agric. Sci.*, **43**, 375-379, 1953.
- CROSSMON (G.). — The isolation of muscle nuclei. *Science*, **85**, 250, 1937.
- CURTIS (G. M.). — The morphology of the Mammalian seminiferous tubule. *Amer. J. Anat.*, **24**, 339-394, 1918.
- DALED (H. J.). — Étude cytochimique sur l'évolution de l'acide ribo nucléique dans la spermatogenèse du Rat. *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, **40**, 183-194, 1951.
- DALLAM (R. D.), THOMAS (L. E.). — Chemical studies on Mammalian sperm. *Biochim. Biophys. Acta*, **11**, 79-89, 1953.
- DALZIEL (C. K.), PHILLIPS (C. L.). — Electric ejaculation. Determination of optimum electric shock to produce ejaculation in Chinchillas and Guinea Pigs. *Amer. J. Veter. Res.*, **9**, 225-232, 1948.
- DAOUST (R.), CLERMONT (Y.). — Distribution of nucleic acids in germ cells during the cycle of the seminiferous epithelium in the Rat. *Amer. J. Anat.*, **96**, 255-283, 1955.
- DAUZIER (L.), MESNIL DU BUISSON (F. DU), GROS (D.), ORTAVANT (R.), THIBAUT (C.). — Utilisation d'une pâte soluble à l'eau froide (« Marsolub »)

- pour la lubrification des vagins artificiels et des speculums. *Elev. Insém.*, **11**, 12-13, 1952.
- DAVIDSON (J. N.), FRAZER (S. C.), HUTSCHINSON (W. C.). — Phosphorus compounds in the cell. I. — Protein bound phosphorus fractions studied with the aid of radioactive phosphorus. *Bioch. J.*, **49**, 311-321, 1951.
- DAVIDSON (J. N.), SMELLIE (R. M. S.). — Phosphorus compound in the cell. III. — The incorporation of radioactive phosphorus with the ribonucleotide fraction of liver tissue. *Bioch. J.*, **52**, 599-606, 1952.
- DEMPSEY (E. W.), MYERS (H. I.), YOUNG (W. C.), JENNISON (D. B.). — Absence of light and the reproductive cycle in the Guinea Pig. *Amer. J. Physiol.*, **109**, 307-311, 1934.
- DENAMUR (R.), SIMONNET (H.). — Quelques aspects du mécanisme physiologique de l'érection et de l'éjaculation. *Rec. Méd. Véter. Alfort.*, **126**, 577-594, 1950.
- DONIACH (I.), PELC (S. R.). — Autoradiograph technique. *Brit. J. Radiol.*, **23**, 184-192, 1950.
- DONIACH (I.), HOWARD (A.), PELC (S. R.). — Autoradiography. *Progr. in Biophysics and biophysical Chem.*, **3**, 1-26., 1953.
- DOUNCE (A. L.). — Enzyme studies on isolated cell nuclei of Rat liver. *J. Biol. Chem.*, **147**, 685-698, 1943 a.
- DOUNCE (A. L.). — Further studies on isolated cell nuclei of normal Rat liver. *J. Biol. Chem.*, **151**, 221-233, 1943 b.
- DOUNCE (A. L.). — The deoxyribonucleic acid content of isolated nuclei of tumor cells. *J. Biol. Chem.*, **151**, 235-240, 1943 c.
- DRASHER (M. L.). — A criticism of the indiscriminate use of the Schmidt-Thannhauser method for the fractionation of nucleic acids in biological material. *Science*, **118**, 181-182, 1953.
- DUESBERG (J.). — La spermiogenèse chez le Rat. *Arch. Zellforsch.*, **2**, 137-180, 1908.
- DUFFEE (F. W.). — An electrical method for collecting semen from fur bearing animals. *Agric. Engng.*, **20**, 349-350. (Saint-Joseph Mich.), 1939. (*Anim. Breed. Abst.*, **9**, 242-243).
- DURFEE (T.), LERNER (M. W.), KAPLAN (N.). — The artificial production of seminal ejaculation. *Anat. Rec.*, **76**, 65-68, 1940.
- DZIUK (P. J.), GRAHAM (E. F.). — Application of the electroejaculation technique to the Bull. *J. Dairy Sci.*, **36**, 598 (Abstract), 1953.
- DZIUK (P. J.), GRAHAM (E. F.), PETERSEN (W. E.). — The technique of electroejaculation and its use in dairy Bulls. *J. Dairy Sci.*, **37**, 1035-1041, 1954.
- DZIUK (P. J.), GRAHAM (E. F.), DONKER (J. D.), MARION (G. B.), PETERSEN (W. E.). — Some observations in collection of semen from Bulls, Goats, Boars and Rams by electrical stimulation. *Veter. Med.*, **49**, 455-458, 1954.
- EBNER (H. von). — Untersuchung über den Bau der Samenköhälchen und die entwicklung der Spermatozoïden bei den Säugetieren und beim Menschen. *Rolle's Unters. Inst. f. Physio. Histol. in graz*, p. 200, 1871 (cité par RENSON, 1882).
- EBNER (H. von). — Zur Spermatogenese bei den Säugetieren. *Arch. Mikr. Anat.*, **31**, 236-292, 1888.
- EBNER (V. von). — Die Geschlechtsorgane-A. Kölliker's Handbuch der Gewebelehre des Menschen., Vol. 3, 6th Ed. Leipzig, 1902 (cité par ROOSEN-RUNGE, 1951).
- EDWARDS (J.). — The effect of unilateral castration on spermatogenesis. *Proc. Roy. Soc., London B*, **128**, 407-421, 1940.
- EGRON. — Sur quelques résultats pratiques de l'électroéjaculation. *Elev. Insém.*, **13**, 19-21, 1952.
- ELY (J. O.), ROSS (M. H.). — Nucleic acids and the Feulgen reaction. *Anat. Rec.*, **104**, 103-123, 1949.

- EMIK (L. O.), SIDWELL (G. M.). — Factors affecting the estimation of concentration of sperm in Ram's semen by the photoelectrometric method. *J. Anim. Sci.*, **6**, 467-475, 1947.
- ERICKSON (R. O.), SAX (K. B.), OGUR (M.). — Perchloric acid in the cytochemistry of pentose nucleic acid. *Science*, **110**, 472-473, 1949.
- ERRERA (M.). — Etude photochimique de l'acide désoxyribonucléique. Mesures énergétiques. *Biochim. Biophys. Acta*, **8**, 30-37, 1952.
- Esdanian, (B. A.). — Développement des spermatogonies à partir de la substance vivante (en russe). *Arkh. Anat. Gistol. Embryol.* (Moscou), **30** (6), 51-57, 1953.
- FARAGGI (H.). — Détection des éléments radioactifs par la technique photographique. — Autoradiographie. — *Comm. En. Atom.*, France, 33 p., 1952.
- FERRIS (L. P.), KING (B. G.), SPENCE (P. W.), WILLIAMS (H. B.). — Effect of electric shock on the heart. *Electric Engin.*, **55**, 496-515, 1936.
- FERROUX (R.), REGAUD (C.), SAMSONOW (N.). — Effets des rayons de roentgen administrés sans fractionnement de la dose sur les testicules du Rat, au point de vue de la stérilisation de l'épithélium séminal. *C. R. Soc. Biol.*, **128**, 170-173, 1938.
- FISKE (V. M.). — Effect of light on sexual maturation, estrous cycles and anterior pituitary of the Rat. *Endocrinology*, **29**, 187-196, 1941.
- FLORU (E.). — Longueur du canal épидидymaire chez l'Homme. *Bull. Acad. Roum. Section Sci.*, **28**, 482-487, 1946.
- FOGG (L. C.), COWING (R. F.). — Post irradiation studies on Mammalian testes. Effect of hourly intervals for first 24 hours. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **79**, 88-92, 1952 a.
- FOGG (L. C.), COWING (R. F.). — Effect of direct X-irradiation on Mammalian testicles. *Exptl. Cell. Res.*, **3**, 19-32, 1952 b.
- FOGG (L. C.), COWING (R. F.). — Cytologic changes in the spermatogonial nuclei correlated with increased radioresistance. *Exptl. Cell. Res.*, **4**, 107-115, 1953.
- GATENBY (J. B.), WOODGER (J. H.). — The cytoplasmic inclusions of the germ cells. IX. On the origin of the Golgi apparatus on the middle-piece of the ripe sperm of Cavia, and the development of the acrosome. *Quart. J. Micr. Sci.*, **65**, 265-291, 1921.
- GHETTE (U.). — Präparation und Lauge des ductus epididymidis beim Pferd und Schwein. *Anat. Anz.*, **87**, 369-374, 1939 (*Anim. Breed. Abst.*, **8**, 95-96).
- GLADCINOVA (E. F.). — Influence des chutes de températures arquées msur la survie des spermatozoïdes (en russe). *Usp. Zootch., Nauk*, **4**, 56-64, 1937 (*Anim. Breed. Abst.*, **7**, 373).
- GLUCKSMANN (A.), HOWARD (A.), PELC (S. R.). — Incorporation of ³⁵S-DL-methionine in Mouse tissues as indicated by autoradiographs. I. Testis, epididymis and seminal vesicle. *J. Anat.* (G. B.), **89**, 13-18, 1955.
- GRASSE (P. P.), CARASSO (N.), FAVARD (P.). — Les dictyosomes (appareil de Golgi) et leur ultra-structure. *C. R. Acad. Sci.*, **241**, 1243-1245, 1955 a.
- GRASSE (P. P.), CARASSO (N.), FAVARD (P.). — L'ultra-structure de la spermatide de l'Escargot (*Helix pomatia*, L.) : chromosomes, enveloppes nucléaires, centrosome. *C. R. Acad. Sci.*, **241**, 1430-1432, 1955 b.
- GREEN (W. W.). — Seasonal trends of sperm cells type in Sheep. *Proc. Amer. Soc. Anim. Prod.*, 33rd Ann. Meet., 207-210, 1940.
- GRESSON (R. A. R.). — A study of the cytoplasmic inclusions during the spermatogenesis of the Mouse. *Proc. Roy. Soc., Edin. B*, **61**, 197-210, 1942.
- GRESSON (R. A. R.). — A study of the male germ cells of the Rat and the Mouse by phase contrast microscopy. *Quart. J. Micr. Sci.*, **91**, 73-79, 1950.
- GRESSON (R. A. R.). — The structure and formation of the Mammalian spermatozoa. *La Cellule*, **54**, 81-102, 1951.

- GRESSION (R. A. R.), ZLOTNIK (I.). — A comparative study of the cytoplasmic components of the male germ cells of certain Mammals. *Proc. Roy. Soc., Edin. B*, **62**, 137-170, 1945.
- GRESSION (R. A. R.), ZLOTNIK (I.). — A study of the cytoplasmic components during the gametogenesis of *Bos Taurus*. *Quart. J. Micr. Sci.*, **89**, 219-228, 1948.
- GUNN (R. M. C.). — Fertility in Sheep : artificial production of seminal ejaculation and the characters of the spermatozoa contained therein. *Bull. Counc. Sci. Indus. Res. Austr.*, n° 94, 116 pp., 1936.
- GUNN (R. M. C.), SANDERS (R. N.), GRANGER (W.). — Studies in fertility in Sheep. II. Seminal changes affecting fertility in Rams. *Bull. Counc. Sci. Indus. Res. Austr.*, n° 148, 140 pp, 1942.
- HABERS (E.), NEUMANN (K.). — Grundlagen der autoradiographischen Darstellung der Nukleinsäuren in gewebschnitten mit Hilfe von Radiophosphor. *Ztschr. f. Naturforsch.*, **9**, 175-180, 1954.
- HAFEZ (E. S. E.), BADRELDIN (A. L.), DARWISH (Y. H.). — Seasonal variations in semen characteristics of Sheep in the subtropics. *J. Agric. Sci.*, **45**, 283-292, 1955.
- HAMMOND (J.), ASDELL (S. A.). — The vitality of the spermatozoa in the male and female reproductive tracts. *Brit. J. Exp. Biol.*, **4**, 155-185, 1927.
- HASHIM (S. A.). — Feulgen hydrolysis with phosphoric acid. *Stain Technol.*, **28**, 27-31, 1953.
- HEATH (H.), RIMINGTON (C.), GLOVER (T.), MANN (T.), LEONE (E.). — Studies using radioactive sulphur on ergothioneine formation in the Pig. *Biochim. J.*, **54**, 606-611, 1953.
- HERTWIG (P.). — Die Regeneration des Samenepithelo der Maus nach Röntgenbestrahlung, unter besonderer Berücksichtigung der Spermatogonien. *Arch. Exptl. Zellforsch. Gewebezucht*, **22**, 68-73, 1938.
- HERZ (R. H.). — Photographic fundamentals of autoradiography. *Nucleonics*, **9**, 24-39, 1951.
- HILL (H. J.), SCOTT (F. S.), HOMAN (N.), GASSNER (F. X.). — Electroejaculation in the Bull. *J. Amer. Veter. Med. Ass.*, **128**, 375-380, 1956.
- HOERR (N. L.). — Methods of isolation of morphological constituents of the liver cell. *Biol. Symposia*, **10**, 185-231, 1943. Dans Glick D. « Techniques of Histo- and Cytochemistry ». Interscience publishers, N. Y., London, p. 458-459.
- HOKIN (L. E.), HOKIN (M. R.). — The incorporation of ^{32}P into the nucleotides of RNA in Pigeon pancreas slices. *Biochim. Biophys. Acta*, **11**, 591-592, 1953.
- HOTCHKISS (R. D.). — A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. *Arch. Bioch.*, **16**, 131-141, 1948.
- HOWARD (A.), PELC (S. R.). — ^{32}P autoradiographs of Mouse testis. Preliminary observations on the timing of spermatogenic stages. *Brit. J. Radiol.*, **23**, 634-641, 1950.
- HOWARD (A.), PELC (S. R.). — Synthesis of nucleoprotein in bean root cells. *Nature*, **167**, 599-600, 1951.
- HOWARD (A.), PELC (S. R.). — Nuclear incorporation of ^{32}P as demonstrated by autoradiographs. *Exptl. Cell Res.*, **2**, 178-187, 1951.
- ITIKAWA (O.), OGURA (Y.). — The Feulgen reaction after hydrolysis at room temperature. *Stain Technol.*, **29**, 13-15, 1954.
- JOEL (C. A.). — Ueber eine Modifikation des elektrischen Ejakulationstest. *Schweiz. Med. Wschr.*, **71**, 1074-1075 1941 (*Anim. Breed. Abst.*, **11**, 249).
- JOHNSON (R. M.), ALBERT (S.). — Incorporation of ^{32}P into the « phosphoprotein » fraction of Mammalian tissue. *J. Biol. Chem.*, **200**, 335-344, 1953.
- KAMINSKI (E. J.). — Histological processing in autoradiography : loss of radioactivity. *Stain Technol.*, **30**, 139-146, 1955.

- KARPOV — 1935 Cité par Esdanian (B. A.). *Arkh. Anat. Gistol. Embryol.*, **30**, (6), 51-57.
- KIEN (K. Van), SENTEIN (P.). — Sur l'application de la réaction nucléale de Turchini, Castel et Kien à l'étude de la spermatogénèse. *Bull. Ass. Anat.*, **34**, 264-267, 1947.
- KIRSCHBAUM (A.). — Experimental modification of the seasonal sexual cycle of the English Sparrow, *Passer domesticus*. *Anat. Rec.*, **57**, 62, 1933.
- KIRSCHBAUM (A.), RINGOEN (A. R.). — Seasonal sexual activity and its experimental modification in the male Sparrow, « *Passer domesticus* ». *Anat. Rec.*, **64**, 453-473, 1936.
- KNUDSEN (O.). — Cytomorphological investigations into the spermiocyto-genesis of Bulls with normal fertility and Bulls with acquired disturbances in spermiogenesis. *Act. Path. Micro. Scand. Supp.* CI — Thesis 79 pp., 1954.
- KOBOZIEFF (N.), LARVOIR (P.). — Sur un nouveau procédé d'électroéjaculation chez la Souris mâle. *C. R. Soc. Biol.*, **147**, 62-63, 1953.
- KOEFOED-JOHNSEN. — (Communication personnelle), 1956.
- KUN (H.), PECZENICK (O.). — Die biologische Wirksamkeit der männlichen sexual Hormone verstärkt durch Follikelhormon. Nachweis am elektrischen Rattentest. *Wien. Klin. Woch.*, **50**, 439-441, 1937.
- LAMERTON (L. F.). — Cité par DONIACH (I.), HOWARD (A.), PELC (S.R.), *Progress in Biophys. Biophys. Chem.*, **3**, 1-26, 1953.
- LAMOREAUX (W. F.). — The influence of different amounts of illumination upon the production of semen in the Fowl. *J. Exp. Zool.*, **94**, 73-95, 1943.
- LANGENDORFF (H.). — Ueber die Wirkung einzeitig verabreichter Röntgendosen auf den rhythmischen Verlauf der Spermatogonienteilungen im Mäusehoden. *Strahlentherapie*, **55**, 58-71, 1936.
- LAPLAUD (M.), CASSOU (R.). — Nouveau procédé de récolte du sperme par électrode bipolaire rectale unique. *C. R. Acad. Agric.*, **31**, 37-38, 1945.
- LAPLAUD (M.), CASSOU (R.). — Recherches sur l'électroéjaculation sur le Tau-reau et le Verrat. *C. R. Soc. Biol.*, **142**, 726-727, 1948.
- LAPLAUD (M.), ORTAVANT (R.), THIBAUT (C.). — L'électroéjaculation peut-elle devenir une méthode courante de collecte de sperme. *C. R. Acad. Agric.*, **34**, 731-733, 1948.
- LAURANS (R.), CLEMENT (P.). — Nouvelles électrodes pour l'électroéjaculation des Ovins et des Bovins. *C. R. Acad. Agric.*, **36**, 450-451, 1950.
- LA VALLETTE SAINT GEORGES (Von). — Ueber die Genese der Samenkörper. *Arch. Mikro. Anat.*, **12**, 797-825, 1876.
- LEBLOND (C. P.). — Distribution of periodic acid-reactive carbohydrates in the adult Rat. *Amer. J. Anat.*, **86**, 1-50, 1950.
- LEBLOND (C. P.), CLERMONT (Y.). — Spermiogenesis of Rat, Mouse, Hamster and Guinea Pig as revealed by the « periodic acid fuchsin sulfurous acid » technique. *Amer. J. Anat.*, **90**, 167-216, 1952 a.
- LEBLOND (C. P.), CLERMONT (Y.). — Définition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the Rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **55**, 548-573, 1952 b.
- LEBRETON (P.). — Remarques sur l'électroéjaculation. *Elev. Insém.*, **26**, 27-28, 1954.
- LENHOSSEK (M. von). — Untersuchungen über Spermatogenese. *Arch. Mikr. Anat. Entwickl.*, **51**, 215-318, 1898.
- LEUCHTENBERGER (C.). — Critical evaluation of Feulgen microspectrophotometry for estimating amount of DNA in cell nuclei. *Science*, **120**, 1022-1023, 1954.
- LEVI (H.). — Quantitative β -track autoradiography of single cells. *Exptl. Cell Res.*, **7**, 44-51, 1954.
- LIKAR (I.), KAMBI (S.). — Elektroejaculacija kod Ovna Veterinaria. *Sarajevo*, **1**, 506-514, 1953 (*Anim. Breed. Abst.*, **21**, 59).

- LORENTZ (F. W.), CAVOULAS (M.), CARSON (J. D.). — Deposition of ^{32}P in Cock spermatozoa. *Poultry Sci.*, **29**, 769 (abstract), 1950.
- LUTWAK-MANN (C.), ROWSON (L. E.). — The chemical composition of the presperm fraction of Bull ejaculate obtained by electric stimulation. *J. Agric. Sci.*, **43**, 131-135, 1953.
- MAC KENZIE (F. F.), BERLINER (V.). — The reproductive capacity of Rams. *Mo. Agric. Expt. Stat. Res. Bull.*, n° 265, 142 pp., 1937.
- MAC MANUS (J. F. A.). — Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*, **158**, 202, 1946.
- MAC MILLAN (E. W.), HARRISON (R. G.). — The rate of passage of radioopaque medium along the ductus epididymidis of the Rat. *Proc. Soc. Studies Fert.*, **7**, 35-40, 1955.
- MANN (T.). — Metabolism of semen. *Advances in Enzymology*, **9**, 329-390, 1949.
- MANN (T.). — The biochemistry of semen. *Methuen's monographs on biochemical subjects*. Methuen. London, 1 vol., 240 pp., 1954.
- MAQSOOD (M.), PARSONS (U.). — Influence of continuous light or darkness on sexual development in the male Rabbit. *Experientia*, **10**, 188-189, 1954.
- MARDEN (W. R. G.). — New advances in the electroejaculation of the Bull. *J. Dairy Sci.*, **37**, 556-561, 1954.
- MARSHALL (F. H. A.), BOWDEN (F. P.). — The effect of irradiation with different wave length on the estrous cycle of the Ferret with remarks on the factors controlling sexual periodicity. *J. Exper. Biol.*, **11**, 409-422, 1934.
- MARSHALL (F. H. A.), BOWDEN (F. P.). — The further effects of irradiation on the estrous cycle on the Ferret. *J. Exper. Biol.*, **13**, 383-386, 1936.
- MASCARENHAS (H.), GOMES (W. V.). — Contribuição ao estudo da electroejaculação em Bovinos, Ovinos e Caprinos. Aplicação da corrente continua ao electrodobipolar. *II Cong. Int. Veter. Zootec.*, Madrid, 146-155, 1952.
- MASON (K. E.), SHAVER (L. S.). — Some functions of the caput epididymis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **55**, 585-593, 1952.
- MATA (G. E.), CANO (A. E.). — L'applicazione dell elettroeiaculazione ed il controllo della fecondita. *Zootech. Veter.*, **7**, 38-40, 1952.
- MERKEL (S. T.). — Erste Entwicklungsstadium der Spermatozoïden. *Unters. aus dem Anat. Inst. Zu.*, Rostock., (cité par RENSON, 1882), 1874.
- MEVES (F. von). — Ueber Struktur und Histogenese der Samenfäden des Meer-schweinchen. *Arch. Mikr. Anat. Entwicklungsmech.*, **54**, 329-402, 1899.
- MEYER (B. J.), MEYER (R. K.). — The effect of light on maturation and the estrous cycle of the cotton Rat, « Sigmodon hispidus-hispidus ». *Endocrinology*, **34**, 276-281, 1944.
- MICKLEWRIGHT (H. L.), KURNICK (N. B.), HODES (R.). — The determination of cell volume. *Exptl. Cell Res.*, **4**, 151-158, 1953.
- MOORE (C. R.). — On the properties of the gonads as controllers of somatic and psychical characteristics. *J. Exp. Biol.*, **50**, 455-494, 1928.
- MOORE (C. R.), GALLAGHER (T. F.). — On the prevention of castration effects in Mammals by testis extract injection. *Amer. J. Physiol.*, **89**, 388-394, 1929.
- MOORE (C. R.), GALLAGHER (T. F.). — Seminal vesicle and prostate function as a testis hormone indicator; the electric ejaculation test. *Amer. J. Anat.*, **45**, 39-69, 1930.
- MOREE (R.). — The normal spermatogenic wave cycle in Peromyscus. *Anat. Rec.*, **99**, 163-176, 1947.
- MOULE (G. R.). — The influence of a rapid decrease in the hours of daylight on the sexual desire of Merino Rams. *Austral. Veter. J.*, **26**, 84-87, 1950.
- NAORA (H.). — Microspectrophotometry of cell nucleus stained by Feulgen reaction. I. — Microspectrophotometric apparatus without Schwarzschild Villiger effect. *Exptl. Cell Res.*, **8**, 259-278, 1955.

- NAORA (H.), SIBATANI (A.). — Unreliability of the data hitherto reported on the DNA content of cell nuclei determined by microspectrophotometry. *Biochim. Biophys. Acta*, **9**, 582-584, 1952.
- NEARY (G. J.), MUNSON (R. J.), MOLE (R. H.). — Effects of daily irradiation by fast neutrons on male fertility. *Nature*, **171**, 256, 1953.
- NIESSING (G.). — Die Beteiligung von Centrialkörper und Sphäre am Aufbau des Samenfadens bei Säugetieren. *Arch. Mikr. Anat. Entwickl.*, **48**, 111-142, 1897.
- NISHIKAWA (Y.), HORIE (T.). — Studies on the effect of day length on the reproductive function of Horses. II. Effect of day length on the function of testes. *Bull. Nat. Inst. Agric. Sci.*, **3**, série G, 45-52, 1952.
- NIZET (A.). — Erythropoïèse et métabolisme protéique. *J. Physiologie*, **47**, 7-60, 1955.
- NOVOSELJCEV (D. V.). — La quantité de spermatozoïdes dans l'épididyme de Verrat et les principes la dirigeant (en russe). *Sovetsk. Zootec.*, **6**, 76-83, 1951 (*Anim. Breed. Abst.*, **20**, 58).
- OAKBERG (E. F.). — Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium. *Amer. J. Anat.*, **99**, 507-516, 1956.
- OETTL (A. G.). — Golgi apparatus of living human testicular cells seen with phase contrast microscopy. *Nature*, **162**, 76-77, 1948.
- OGUR (M.), ROSEN (G.). — Extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid (DNA) and pentose nucleic acid (PNA) from plant tissues. *Feder. Proc.*, **8**, 234, 1949.
- OGUR (M.), ROSEN (G.). — The nucleic acids of plant tissues. I. The extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. *Arch. Biochem.*, **25**, 262-276, 1950.
- ORTAVANT (R.). — Recherches quantitatives sur la spermatogénèse et les réserves spermatiques du Bélier. *II^d Int. Congr. Physiol. Pathol. Anim. Reprod. Art. Ins.* (Copenhagen), 63-69, 1952.
- ORTAVANT (R.). — Etude des générations spermatogoniales chez le Bélier. *C. R. Soc. Biol.*, **148**, 1958-1960, 1954 a.
- ORTAVANT (R.). — L'appareil acrosomique du spermatozoïde de Bélier. *C. R. Acad. Sci.*, **239**, 830-832, 1954 b.
- ORTAVANT (R.). — Contribution à l'étude de la durée du processus spermatogénétique du Bélier à l'aide du ^{32}P . *C. R. Soc. Biol.*, **148**, 804-806, 1954 c.
- ORTAVANT (R.). — Détermination de la vitesse du transfert des spermatozoïdes dans l'épididyme de Bélier à l'aide de ^{32}P . *C. R. Soc. Biol.*, **148**, 866-868, 1954 d.
- ORTAVANT (R.). — Autoradiographie des cellules germinales du testicule de Bélier. Durée des phénomènes spermatogénétiques. *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, **45**, 1-10, 1956 a.
- ORTAVANT (R.). — Action de la durée d'éclairement sur les processus spermatogénétiques chez le Bélier. *C. R. Soc. Biol.*, **150**, 471-474, 1956 b.
- ORTAVANT (R.), LAPLAUD (M.), THIBAUT (C.). — Influence de l'électroéjaculation sur la qualité du sperme chez le Bélier. *C. R. Acad. Agric.*, **34**, 733-736, 1948.
- ORTAVANT (R.), THIBAUT (C.). — Influence de la durée d'éclairement sur la fonction sexuelle du Bélier. 4^{es} Journées Europ. Zootech. Lucerne 1954.
- ORTAVANT (R.), THIBAUT (C.). — Influence de la durée d'éclairement sur les productions spermatiques du Bélier. *C. R. Soc. Biol.*, **150**, 358-361, 1956 a.
- ORTAVANT (R.), THIBAUT (C.). — Action de la durée d'éclairement sur la spermatogénèse chez le Bélier. *II^d Int. Congr. Fert. Ster.* (Naples), sous presse, 1956 b.
- PAPANICOLAOU (G. N.), STOCKARD (C. R.). — The development of the idiosome in the germ cells of the male Guinea Pig. *Amer. J. Anat.*, **24**, 37-64, 1918.

- PARKER (J. E.), SPADDEN (Mac). — Seasonal variation in semen production in domestic fowls. *Poultry Sci.*, **22**, 142-147, 1943.
- PHILLIPS (R. W.), ANDREWS (F. N.). — The development of the testes and scrotum of the Ram, Bull and Boar. *Mass. Agric. Exptl. Stat. Bull.*, n° 331, 16 pp, 1936.
- PHILLIPS (R. W.), SCHOTT (R. G.), EATON (O. N.), SIMMONS (V. L.). — Seasonal variations in the semen of Sheep and Goat. *Cornell Vet.*, **33**, 227-235, 1943.
- PIGOURY (L.), NIZZA (P.). — Radio-contamination des viandes et possibilité de récupération. *Rec. Méd. Vétér.*, **7**, 434-440, 1954.
- PLAUT (W. J.). — DNA synthesis in the microsporocytes of *Lilium Henryi*. *Hereditas*, **39**, 438-444, 1954.
- POLOVCEVA (V.). — La vitesse de passage et le temps de maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme de Bélier (en russe). *Dokl. Akad. Sel'skhoz. Nauk.*, n° 15115, 43-52, 1938.
- POTTER (V. R.), ELVEJEHM (C. A.). — A modified method for the study of tissue oxidations. *J. Biol. Chem.*, **114**, 495-504, 1936.
- POUYET (J.). — L'acide chlorhydrique, succédané de la ribonucléase dans l'élimination spécifique de l'acide ribonucléique chez les cellules des êtres supérieurs aussi bien que chez les Bactéries ; aspect chimique de la question. *C. R. Acad. Sci.*, **228**, 608-610, 1949.
- PRICE (A. T.), JONES (R. P.), SMYTH (J. D.). — Golgi apparatus by phase contrast microscopy. *Nature*, **157**, 553-554, 1946.
- PURSLEY (G. R.), HERMAN (H. A.). — Some effects of hypertonic and hypotonic solutions on the livability and morphology of bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.*, **33**, 220-227, 1950.
- RANDALL (J. T.), FRIEDLANDER (M. H. G.). — The microstructure of Ram spermatozoa. *Exptl. Cell Res.*, **1**, 1-32, 1950.
- RATHER (L. J.). — Experimental alterations of nuclear and cytoplasmic components of the liver cell with thio-acetamide. I. — Early onset and reversibility of volume changes of the nucleolus, nucleus and cytoplasm. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **88**, 38-58, 1951.
- REGAUD (C.). — Direction hélicoïdale du mouvement spermatogénétique dans les tubes séminifères du Rat. *C. R. Soc. Biol.*, **52**, 1042-1044, 1900.
- REGAUD (C.). — Etudes sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogenèse chez les Mammifères. *Arch. Anat. Micr.*, **4**, 101-156, 231-380, 1901.
- REGAUD (C.). — Etudes sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogenèse chez les Mammifères. *Arch. Anat. Micr.*, **11**, 291-431, 1909.
- REGAUD (C.). — Particularités d'action des rayons de Röntgen sur l'épithélium séminal du Chat. *C. R. Soc. Biol.*, **68**, 541-543, 1910.
- REGAUD (C.), BLANC (J.). — Action des rayons X sur les diverses générations de la lignée spermatique. Extrême sensibilité des spermatogonies à ces rayons. *C. R. Soc. Biol.*, **58**, 163-165, 1906.
- REGAUD (C.), DUBREUIL (G.). — Action des rayons de Röntgen sur le testicule de Lapin. I. Conservation de la puissance virile et stérilisation. *C. R. Soc. Biol.*, **63**, 647-649, 1907.
- REGAUD (C.), DUBREUIL (G.). — Influence de la röntgenisation des testicules sur la structure de l'épithélium séminal et des épидидymes, sur la fécondité et sur la puissance virile du Lapin. *Arch. Electr. Méd.*, **16**, 564-566, 1908.
- RENSON (G.). — De la spermatogenèse chez les Mammifères. *Arch. Biol.*, **3**, 291-334, 1882.
- RIS (H.), MIRSKY (A. E.). — Quantitative cytochemical determination of deoxyribonucleic acid with the Feulgen nuclear reaction. *J. Gen. Physiol.*, **33**, 125-146, 1949.

- RISLEY (P. L.). — Autoradiographs of Hamster spermatozoa. *J. Cell. Compar. Physiol.*, **45**, 21-32, 1955.
- RISLEY (P. L.), SODERWALL (A. L.), CHAIMOV (A. L.). — Distribution of radioactive phosphorus in the Hamster epididymis. *Anat. Rec.*, **120**, 714 (Abstract), 1954.
- RODIN (M.). — L'influence de la température du vagin artificiel sur l'acte ejaculatoire du Béliier (en russe). *Ovcerodstvo*, **7**, 34-35, 1934 (*Anim. Breed. Abst.*, **2**, 331).
- RODIN (M.). — L'influence des stimuli therimiques et mécaniques sur l'éjaculation dans le vagin artificiel chez les Béliers (en russe). *Trud. Lab. iskusst. Osemen. Zivotn.* (Mosk.), **1**, 225-241, 1940. (*Anim. Breed. Abst.*, **13**, 38-39).
- ROLSHOVEN (E.). — Zur Frage des « Alterns » der generativen Elementen in den Hodenkanälchen. *Anat. Anz.*, **91**, 1-8, 1941.
- ROLSHOVEN (E.). — Spermatogenese und Sertoli syncytium. *Zeits. Zell. Mikr. Anat.*, **33**, 439-460, 1945.
- ROLSHOVEN (E.). — Ueber die Reifungsteilungen bei der Spermatogenese mit einer Kritik des bisherigen Begriffes der Zellteilung. *Verhandl. D. Anat. Ges.*, **49**, 189-197, 1951.
- ROOSEN-RUNGE (E. C.). — Quantitative studies on spermatogenesis in the albino Rat. II. The duration of spermatogenesis and some effects of colchicine. *Amer. J. Anat.*, **88**, 163-176, 1951.
- ROOSEN-RUNGE (E. C.), GIESEL (L. O.). — Quantitative studies on spermatogenesis in the albino Rat. *Amer. J. Anat.*, **87**, 1-30, 1950.
- ROOSEN-RUNGE (E. C.), BARLOW (F. D.). — Quantitative studies on human spermatogenesis. I. Spermatogonia. *Amer. J. Anat.*, **93**, 143-170, 1953.
- ROTSCHILD (Lord). — Counting spermatozoa. *J. Exp. Biol.*, **26**, 388-395, 1950.
- ROWAN (W.). — Relation of light to bird migration and development changes. *Nature*, **115**, 494-495, 1925.
- ROWSON (L. E.), MURDOCH (M. J.). — Electric ejaculation in the Bull. *Veter. Rec.*, **66**, 326, 1955.
- RUSS (C.). — Effects of Phosphorus 32 on the Hamster. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **74**, 729-731, 1950.
- SCHMIDT (G.), THANNHAUSER (S. J.). — A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **161**, 83-89, 1945.
- SCHNEIDER (W. C.). — Phosphorus compounds in animal tissues. I. Extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and of pentose nucleic acid. *J. Biol. Chem.*, **161**, 293-303, 1945.
- SCHNEIDER (W. C.). — Phosphorus compounds in animal tissues. III. A comparison of methods for the estimation of nucleic acids. *J. Biol. Chem.*, **164**, 747-751, 1946.
- SCHOENFELD (H.). — La spermatogenèse chez le Taureau et chez les Mammifères en général. *Arch. Biol.*, **18**, 1-72, 1901.
- SCHREIBER (G.). — Statistical and physiological studies on the interphasic growth of nuclei. *Biol. Bull.*, **97**, 187-205, 1949.
- SERTOLI — Sulla struttura dei canalicali seminiferi. *Gaz. Medi. Ital.*, Vol. V., 1874.
- SHAVER (S. L.). — X-irradiation injury and repair in the germinal epithelium of male Rats. I. Injury and repair in adult Rats. *Amer. J. Anat.*, **92**, 391-432 1953 a.
- SHAVER (S. L.). — X-irradiation injury and repair in the germinal epithelium of male Rats. II. Injury and repair in immature Rats. *Amer. J. Anat.*, **92**, 433-450, 1953 b.
- SHAVER (S. L.). — The role of stereocilia in removing india ink particles from the lumen of the Rat epididymis. *Anat. Rec.*, **119**, 177-185, 1954.

- SIBATANI (A.). — Feulgen reaction and quantitative cytochemistry of DNA. V. Chemical determination of colour intensity of the reaction in situ. *Biochim. Biophys. Acta*, **13**, 66-71, 1954.
- SIBATANI (A.), FUKUDA (M.). — Feulgen reaction and quantitative cytochemistry of DNA. I. Estimation of the loss of tissue DNA caused by fixation and acid hydrolysis. *Biochim. Biophys. Acta*, **10**, 93-103, 1953.
- SIBATANI (A.), NAORA (H.). — Feulgen reaction and quantitative cytochemistry of DNA. IV. Microspectrophotometric study of the Feulgen reaction in situ. *Biochim. Biophys. Acta*, **12**, 515-520, 1953.
- SIRLIN (J. L.), EDWARDS (R. G.). — The labelling of Mouse sperm by adenine 8-C¹⁴. *Exptl. Cell Res.*, **9**, 596-599, 1955.
- SISSON (S.), GROSSMAN (J. D.). — The anatomy of the domestic animals. W. B. Saunders Co. Philadelphia and London, 972 pp., 1 vol., 1948.
- SOKOLOVA (I. M.). — Etude des réflexes sexuels conditionnés chez les Béliers (en russe). *Trud. Lab. Iskust. Osemen Zivotn.* (Moscou), **1**, 23-35, 1940 (*Anim. Breed. Abst.*, **13**, 36).
- STARKES (N. C.). — The sperm picture of Rams of different breeds as an indication of their fertility. *Onderstepoort J. Vet. Sci.*, **22**, 415-472, 1949.
- STEFANO (H. DI), MAZIA (D.). — The role of the midpiece in the incorporation of ³²P into the ribonucleic acid of Arbacia spermatozoa. *Biol. Bull.*, **103**, 299-300, 1953.
- STEVENS (N. M.). — Heterochromosomes in the Guinea Pig. *Biol. Bull.*, **21**, 155-167, 1911.
- STONEBURG (C. A.). — Lipids of the cell nuclei. *J. Biol. Chem.*, **129**, 189-196, 1939.
- STROGANOVA (N. S.). — Origine et développement des cellules sexuelles mâles chez les Mammifères (en russe). *Izvest. Akad. Nauk SSSR (Sér. Biol.)*, **6**, 37-48, 1952.
- STROGANOVA (N. S.). — Amitose dans la spermatogenèse chez les Mammifères (en russe). *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **85**, 897-900, 1952.
- SULKIN (N. M.). — Histochemical localization of ribonucleoproteins by alkaline hydrolysis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **78**, 32-34, 1951.
- SULKIN (N. M.), KUNTZ (A.). — Histochemical determination of ribose nucleic acid in Vertebrate tissues following extraction with perchloric acid. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **73**, 413-415, 1950.
- SUZUKI (Y.). — New ejaculatory responses in the Rat and their application as the indicators of sexual activities. *IId Int. Cong. Phys. Path. Anim. Reprod. Art. Ins.* (Copenhagen), 53-62, 1952.
- SWAEN (A.), MASQUELIN (H.). — Etude sur la spermatogenèse. *Arch. Biol.*, **4**, 749-801, 1883.
- TAYLOR (J. H.). — Autoradiographic detection of incorporation of ³²P into chromosomes during meiosis and mitosis. *Exptl. Cell Res.*, **4**, 164-173, 1953.
- TERRILL (C. E.). — Comparison of Ram semen collection obtained by three different methods for artificial insemination. *Proc. Amer. Soc. Anim. Prod.*, 33rd Ann. meet., 201-207, 1940.
- TERRILL (C. E.). — The artificial insemination of farm animals. Sheep and Goats. Enos J. Perry Editor. Rutgers University Press, p. 137-159, 1949.
- THIBAULT (C.). — Les besoins alimentaires dans la vie sexuelle. *Ann. Nutrit. Alim.*, **7**, 23-28, 1953.
- THIBAULT (C.), LAPLAUD (M.), ORTAVANT (R.). — L'électroéjaculation chez le Taureau. Technique et résultats. *C. R. Acad. Sci.*, **226**, 2006-2008, 1948.
- THOMAS (R.). — Réactions chimiques au cours de l'hydrolyse préalable à la réaction de Feulgen. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **32**, 469-472, 1950.
- THOMAS (L. E.), MAYER (D. T.). — The proteins of Mammalian spermatozoa and cellular nuclei. *Science*, **110**, 393, 1949.

- TINET (R.). — Electroéjaculation chez les Volailles, Cobayes, Souris, Chiens. Thèse Doct. Méd. Vétér. Alfort, 1939.
- TOOTHILL (M. C.), YOUNG (W. C.). — The time consumed by spermatozoa in passing through the ductus epididymidis of the Guinea Pig as determined by means of india ink injections. *Anat. Rec.*, **50**, 95-107, 1931.
- TRAUTMANN (A.), FIEBIGER (J.). — Fundamentals of the histology of domestic animals. Comstock publishing associates. Ithaca, N. Y., 426 pp., 1 vol., 1952.
- VAN HOOF (L.). — L'évolution de l'élément chromatique dans la spermatogénèse du Rat. *La Cellule*, **27**, 291-347, 1912.
- VAU (E.), LAURINCA (J.). — Longueur du conduit épидидymaire chez quelques étalons de la race Tori. *Eesti Esomaarsti. Ring*, **15**, 137-143, 1939 (*Anim. Breed. Abst.*, **8**, 345).
- VAN MOLLE (J.). — La manchette dans le spermatozoïde des Mammifères. *La Cellule*, **26**, 423-449, 1910.
- VENDRELY-RANDEVEL. — HCl, succédané de la ribonucléase dans la localisation de RNA chez les cellules des êtres supérieurs aussi bien que chez les Bactéries : aspect histologique de la question. *C. R. Acad. Sci.*, **228**, 606-608, 1949.
- VERCAUTEREN (R.). — Sur l'emploi de la ribo- et la désoxyribonucléase. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **32**, 473-475, 1950.
- VINCENT (W. S.). — Loss of radioactivity from tissue sections during histological processing. *Biol. Bull.*, **107**, 321 (Abstract), 1954.
- VOLCANI (R.). — Seasonal variations in spermatogenesis of some farm animals under the climatic conditions of Israël. *Bull. Res. Council. Israël*, **3**, 123-126, 1953.
- WAGENEN (G. van), SIMPSON (M. E.). — Testicular development in the rhesus Monkey. *Anat. Rec.*, **118**, 231-252, 1954.
- WALDEYER (W.). — Die Geschlechtszellen. Handb. vergl. u. expt. Entwicklungslehre der Wirbeltiere. (O. Hertwig), **1**, 86-476, 1906.
- WALTON (A.), EDWARDS (J.). — Criteria of Fertility in the Bull. I. The exhaustion test. *Proc. Amer. Soc. Anim. Prod.*, 31st Ann. Meet., 254-259, 1938.
- WARREN (S.), DIXON (F. J.). — Effects of continuous radiation on Chick embryos and developing Chicks. I. Growth rate, gonads and bone. *Radiology*, **52**, 714-729, 1949.
- WARREN (S.), MAC MILLAN (J. C.), DIXON (F. J.). — Effects of internal irradiation of Mice with ³²P. II. Gonads, kidneys, adrenal glands, digestive tract, spinal cord, lungs, liver. *Radiology*, **55**, 557-570, 1950.
- WATSON (N. L.). — Spermatogenesis in the albino Rat as revealed by electron microscopy. *Biochim. Biophys. Acta*, **8**, 369-374, 1952.
- WHITAKER (W. L.). — Some effects of artificial illumination on reproduction in the white-footed Mouse, *Peromyscus Leucopus Noveboracensis*. *J. Exper. Zool.*, **83**, 33-60, 1940.
- WILKINS (M. H. F.), RANDALL (J. T.). — Crystallinity in sperm head : molecular structure of nucleoproteins in vivo. *Biochim. Biophys. Acta*, **10**, 192-193, 1953.
- WISLOCKI (G. B.). — Seasonal changes in the testes, epididymides and seminal vesicles of Deer investigated by histochemical methods. *Endocrinology*, **44**, 167-189, 1949.
- YEATES (N. T. M.). — The breeding season of the Sheep with particular reference to its modification by artificial means using light. *J. Agric. Sci.*, **39**, 1-43, 1949.
- YOUNG (W. C.). — A study of the function of the epididymis. II. The importance of an aging process in sperm for the length to the period during which fertilizing capacity is retained by sperm isolated in the epididymis of the Guinea Pig. *J. Morph. Physiol.*, **48**, 475-491, 1929.

- YOUNG (W. C.). — Die Resorption in den ductuli efferentes des Maus und ihre Bedeutung für das Problem der Unterbindung in Hoden Nedenhoden System. *Ztschr. Zellforsch. Mikro. Anat.*, **17**, 729-759, 1933.
- ZAJDELA (F.). — Une nouvelle technique autohistoradiographique. *J. Rad. Electrol.*, **33**, 549-551, 1952.
- ZITTLE (C. A.), O'DELL (R. A.). — Chemical studies of Bull spermatozoa lipid, sulfur, cystine nitrogen, phosphorus and acid content of whole spermatozoa and of the parts obtained by physical means. *J. Biol. Chem.*, **140**, 899-907, 1941.
-

TABLE DES MATIÈRES

Introduction.....	9
Techniques et méthodes.....	10
A. — Les animaux et les conditions d'élevage	10
Race	10
Alimentation	10
Habitat	10
B. — Prélèvement des échantillons à analyser	11
1° L'appareil génital.....	11
2° Les spermatozoïdes :	
a) Les techniques de récolte du sperme	12
b) Séparation des spermatozoïdes à partir du canal épididymaire	17
3° Libération et détermination des spermatides à noyaux allongés et des spermatozoïdes dans le testicule	17
C. — Techniques histologiques.....	20
1° Obtention et coloration des coupes histologiques :	
a) Réaction de Feulgen.....	21
b) Coloration acide périodique-Schiff.....	21
2° Numération des cellules dans les coupes histologiques.	23
D. — Techniques physico-chimiques :	
1° Extraction des différentes fractions phosphorées des cellules germinales et des spermatozoïdes et déter- mination de leur radioactivité spécifique :	
a) Sur homogénats de spermatozoïdes.....	24
b) Sur coupes histologiques	26
2° Mise en évidence du ³² P par la technique autoradio- graphique	28

PREMIÈRE PARTIE

DÉFINITION ET ÉTUDE HISTOLOGIQUE DU CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE

I. — Associations cellulaires et cycle spermatogénétique.....	31
A. — Définitions	31
B. — Étude du cycle de l'épithélium séminifère chez le Bélier.	32
1° Historique	32
2° Définition des stades du cycle de l'épithélium sé- minifère chez le Bélier.....	33

3° Fréquence des stades du cycle de l'épithélium séminifère chez le Bélier	34
C. — Le cycle spermatogénétique représente-t-il une constante biologique	40
II. — Origine du cycle spermatogénétique : générations spermatogoniales	
A. — Historique.....	41
1° Les spermatogonies : définition et classification.....	41
2° Le renouvellement des spermatogonies	42
B. — Étude des spermatogonies chez le Bélier.	
1° Étude morphologique des spermatogonies	43
2° Évolution des spermatogonies au cours du cycle de l'épithélium séminifère. Étude caryométrique:	
a) Populations spermatogoniales	46
b) Évolution de la taille nucléaire des spermatogonies au cours de la spermatogénèse.....	51
C. — Discussion	52
III. — Les autres éléments du cycle spermatogénétique.....	
A. — Les spermatoctytes.	
1° Les spermatoctytes de 1 ^{er} ordre.....	54
2° Les spermatoctytes de 2 ^e ordre	55
B. — Les spermatides.....	55
1° Historique :	
a) Le noyau des spermatides	56
b) Les constituants cytoplasmiques des spermatides.....	56
2° La spermiogénèse chez le Bélier. Résultats personnels	59

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE CHRONOMÉTRIQUE DU CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE

I. — Historique et position du problème chez le Bélier	71
a) Études basées sur les mitoses et méioses.....	71
b) Études basées sur la destruction et la régénération de l'épithélium séminifère	72
c) Études basées sur les éléments marqués.....	72
II. — Méthode indirecte de détermination de la durée du cycle spermatogénétique.....	
A. — Quantité totale de spermatides à noyaux allongés ..	73
1° Relation avec le poids et variations saisonnières du nombre testiculaire	74
2° Signification du nombre testiculaire par rapport au cycle spermatogénétique.....	78

B. — Débit testiculaire quotidien en spermatozoïdes....	79
1° Caractéristiques générales du canal épидидymaire du Bélier	79
2° Étude des réserves épидидymaires chez des Béliers de race Ile-de-France :	
a) Béliers au repos sexuel.....	81
b) Béliers soumis à des collectes par électro-éjaculation	82
3° Calcul de la production quotidienne de spermatozoïdes :	
a) Historique	83
b) Résultats	84
C. — Calcul de la durée du cycle spermatogénétique....	86
III. — Méthode directe de détermination de la durée du cycle spermatogénétique à l'aide du ^{32}P	87
A. — Historique : Les spermatozoïdes et les éléments marqués.....	87
B. — Recherches personnelles	88
1° Incorporation du ^{32}P dans les cellules germinales	89
2° Évolution des noyaux marqués avec du ^{32}P ..	92
3° Évolution de la radioactivité des spermatozoïdes épидидymaires :	
a) Radioactivité de l'épididyme.....	93
b) Radioactivité des spermatozoïdes épидидymaires.....	94
4° Calcul de la durée des processus spermatogénétiques	97
5° Discussion :	
a) Valeur de la technique.....	100
b) Influence du ^{32}P sur la spermatogenèse.	101
IV. — Constance de la durée du cycle spermatogénétique. Influence de la durée d'éclairement	102
V. — Conclusions	109

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

CARACTÉRISTIQUES HISTOCHIMIQUES DES CELLULES DE L'HYPOPHYSE CHEZ LES ANIMAUX DOMESTIQUES

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 24 Février 1958.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,
J. PÉRÈS.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Pour le Recteur de l'Académie
de Paris,
Jean SARRAILH.

